

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
MADRID**

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA



**ESPECTRO DE LA NEFROPATÍA DIABÉTICA EN EL
SIGLO XXI**

TESIS DOCTORAL

BEATRIZ FERNÁNDEZ FERNÁNDEZ

MADRID, 2017

Agradecimientos

- Gracias al Dr Jesús Egido, que me abrió las puertas de Servicio de Nefrología, y me transmitió su pasión por el estudio de la diabetes y la patología vascular, en la que se centra hoy mi Tesis doctoral, soy muy afortunada de contar con tan gran maestro.
- A mis directores, el Dr Alberto Ortiz, trabajador incansable y referente como médico y como persona, gracias por guiar mis pasos en esta tesis y en el mundo de la Nefrología, y a la Dra Maria Dolores Sanchez-Niño, que me ha enseñado con paciencia y mucho cariño la difícil tarea de llevar el laboratorio a la clínica.
- Gracias al departamento Baxter Novum del Instituto Karolinska, a Bengt Lindholm, Juan Jesús Carrero, Peter Stenvinkel, Elvia Garcia López y Tony Qureshi, de quienes he aprendido no sólo estadística y epidemiología sino paciencia, humildad y humanidad.
- Al Servicio de Nefrología de la Fundación Jimenez Díaz.

A Emilio Gonzalez Parra, por apoyarme en mis proyectos y creer en mis capacidades ya desde residente.

A Catalina Martín-Cleary por acompañarme en el día a día desde hace tantos años, gracias por tantos momentos vividos y compartidos.

A Ana Ramos, por cuidarme siempre, por enseñarme a priorizar, a organizarme, por confiar en que juntas llegaremos muy lejos.

A Carolina Gracia, Laura Rodríguez Osorio y Vanessa Perez que me han aupado a seguir en los momentos difíciles con su entusiasmo.

A Jesús Hernández, por darme una visión práctica y certera en las situaciones complejas. A Raquel Alegre y Gabriela Rossello, trabajadoras incansables y a Jorge Rojas, siempre dispuesto con amabilidad y una gran sonrisa.

A mis residentes, Sole, Raquel, Esmeralda y Raul, que sois el futuro prometedor.

A todo el personal de enfermería de la FJD-FRIAT, que son imagen del cariño por el enfermo y su bienestar, es un honor trabajar con ellos.

- A mis compañeros del Laboratorio de Nefrología de la Fundación Jiménez Díaz, por abrirme las puertas del “labo” y acercarme a un mundo y unas personas fascinantes.
- Y gracias a Jinny Sanchez, por esas tardes frente al Excel y a Ignacio Mahillo por su inestimable ayuda con el tratamiento estadístico de los datos.
- Gracias también a mis amigas de siempre, por tener la confianza de que conseguiremos todos los éxitos posibles y los compartiremos juntas.
- Por último, a mi familia. A mi padre, mi mejor ejemplo, a mi marido Juan que con mucha paciencia me ha ayudado a maquetar esta tesis, a mi hermana Gema, y a mi tío Gil, y, ante todo, a mi Madre, sin la cual el desarrollo de mi carrera profesional no hubiera sido posible, gracias porque desde el Cielo me has transmitido tu fuerza y tu capacidad de luchar ante las dificultades. Esta Tesis es para ti.

Índice detallado / Table of contents

Resumen / Abstract	VII
Abreviaturas / abbreviations	1
Introducción / Background	9
1. Incidence and prevalence of DKD	11
1.1. DKD in Spain	11
2. Diabetic Kidney Disease (DKD): The expanded spectrum	12
3. Economic and social impact of DKD	14
4. Risk factors for DKD	14
4.1. Genetic predisposition and race	15
4.2. Age	15
4.3. Sex	15
4.4. Hypertension	17
4.5. Glomerular filtration rate	17
4.6. Glycemic control	17
4.7. Smoking	17
4.8. Obesity and hyperlipidemia	18
4.9. Systemic inflammation	18
5. Clinical stages and evolution	19
6. Pathogenesis	20
6.1. Impaired renal haemodynamics	21
6.2. Hyperglycemia	21
6.3. Podocyte injury	21

6.4. Inflammation: cytokines	22
7. Pathology	22
8. Finding new markers in CKD	24
8.1. Defining new biomarkers: CXCL16, PCSK9 and GDF11	25
9. Prevention and treatment of DKD	27
9.1. Glycemic control	27
9.2. Blood pressure control	28
9.3. Antiproteinuric medication	29
9.4. Control of lipids and other diabetic risk factors	30
9.5. Protein restriction	31
9.6. Multitarget approaches	31
9.7. New therapeutic approaches	32
9.7.1. Optimizing already tested approaches or drugs	32
9.7.2. Novel therapeutic approaches	35
Hipótesis / Hypothesis	41
Objetivos / Objectives	45
Material y métodos	49
1. Área de estudio: consulta monográfica de enfermedad renal crónica en la diabetes ..	51
2. Tipo de estudio y población de estudio	51
3. Variables de estudio	53
4. Pruebas complementarias	56
5. Nuevos biomarcadores	59
6. Pruebas cardiológicas	60
7. Seguimiento clínico y objetivos terapéuticos.	61

8. Variables de resultados en el seguimiento prospectivo	64
9. Análisis estadístico	65
Resultados	69
1. Espectro clínico de la enfermedad renal crónica en la diabetes	71
1.1. Función renal y parámetros analíticos	88
2. Evolución de la función renal y proteinuria en la población total	95
2.1. Evolución de la función renal y proteinuria en función del FGe basal	96
2.2. Variables asociadas a la pérdida de FGe	103
2.3. Evolución de la función renal y proteinuria en función del sexo	105
2.4. Variables asociadas a la pérdida de FGe en función del sexo	106
2.5. Variables asociadas a la evolución de la albuminuria en la población general ..	107
2.6. Rápidos progresadores	113
2.7. Rápidos progresadores en función del sexo	120
2.8. Valor predictivo de UACR para rápida progresión	127
3. Mortalidad	130
4. Tratamiento sustitutivo de la función renal	131
5. Evento combinado	133
6. Enfermedad renal crónica en la diabetes del anciano	135
7. Marcador proteómico CKD273	138
Discusión	145
1. La población con ERC y diabetes tiene una evolución favorable con tratamiento ..	147
2. La ERC asociada a DM tiene características y evolución diferentes en hombres y en mujeres	150

2.1. Factores asociados a peor evolución de la función renal en hombres, pero no en mujeres	155
2.2. Factores asociados a peor evolución de la función renal en mujeres, pero no en hombres	156
2.3. Evolución de la albuminuria	157
3. La UACR no identifica de forma fiable a las mujeres rápidas progresadoras	159
4. Interpretación de parámetros de lesión y función renal en hombres y en mujeres ..	162
5. La ERC de los ancianos (>75,8 años) no tiene peor pronóstico que la de los pacientes más jóvenes	163
6. Malnutrición e inflamación como factores asociados a tratamiento sustitutivo de la función renal y/o muerte	164
7. El marcador proteómico CKD273 como predictor de ERC en la diabetes	166
8. Debilidades	167
9. Fortalezas	168
Conclusiones	171
Referencias	177
Trabajos publicados	213
Anexo	221

Resumen / Abstract

Resumen / Abstract

La nefropatía diabética continúa siendo la causa más frecuente de enfermedad renal crónica avanzada (ERCA) en nuestro medio a pesar de las mejoras instauradas en el control glicémico, la tensión arterial y el tratamiento nefroprotector con inhibidores del sistema renina angiotensina. Conociendo mejor el fenotipo actual de la ERC en la diabetes e identificando nuevos biomarcadores se podría optimizar el tratamiento y mejorar el pronóstico. Con este objetivo se diseñó este estudio observacional, prospectivo de 261 pacientes con diabetes melitus remitidos a la consulta de ERC en la diabetes, seguidos durante 30 meses, registrando variables clínicas y analíticas basales y buscando factores predictores de la velocidad de progresión de la función renal, albuminuria, necesidad de tratamiento renal sustitutivo o fallecimiento y la combinación entre ambos eventos.

Resultados: En general, el pronóstico global de la población fue bueno, con una pérdida de filtrado glomerular estimado (FGe) similar al esperable por la edad ($-1 \text{ ml/min/1,73 m}^2/\text{año}$). No obstante, en estadios avanzados (G4) albuminuria no disminuyó, lo que se asoció a peor progresión de los pacientes.

Hubo diferencias entre hombres y mujeres en la magnitud de la albuminuria, en la prevalencia de otros factores de riesgo y en el pronóstico de la función renal.

En los pacientes que progresaron de forma más rápida (pérdida de FGe $>5 \text{ ml/min/1,73 m}^2$) durante el seguimiento, el UACR tuvo poco valor predictivo en mujeres. En este sentido, el marcador proteómico CKD273 podría estudiarse como marcador de progresión en mujeres.

Durante el seguimiento fallecieron un total de 44/261 pacientes (17%), 32/170 (19%) varones y 12/91 (13%), mujeres. Las mujeres tuvieron menor riesgo de mortalidad que los hombres en los análisis ajustados por edad, UACR y FGe.

Finalmente, el pronóstico de los más mayores (tercil superior, $>75,8$ años) no fue peor, en términos generales, que entre los más jóvenes. No hubo diferencias entre los tres terciles en la eventual necesidad de tratamiento renal sustitutivo y el punto de corte que marcó diferencia, en mortalidad fue 63,5 años.

El biomarcador urinario CKD273 se asoció con la presencia de ERC en la diabetes.

Conclusiones: A pesar de que la evolución global de los pacientes con ERC en la DM tratados según las últimas guías es buena, existen diferencias entre sexos, siendo la albuminuria un mal predictor de rápida progresión en mujeres. Además, en los pacientes en estadio G4 la eficacia del tratamiento disminuye sustancialmente, por lo que es de importancia la remisión temprana al nefrólogo. Los nuevos biomarcadores, como el marcador urinario CKD273 son una promesa como predictores de progresión de ERC en la diabetes.

Resumen / Abstract

Diabetic nephropathy still remains as the most frequent cause of end stage renal disease (ESRD) in our population despite the improvements established in the glycemic control, blood pressure and nephroprotective treatment with Renin Angiotensin Aldosterone inhibitors. The better knowledge of the actual phenotype of Diabetic Kidney Disease (DKD) and the identification of new biomarkers could optimize the treatment and improve the prognosis of DKD.

With this objective we designed this prospective, observational study with 261 patients with DM referred to DKD outpatient clinic, followed up for 30 months, registering clinical and analytical variables at baseline, and looking for predicting factors for rate of progression of renal function, albuminuria, need for renal replacement therapy or decease and the combination of these events.

Results: In general, the global prognosis of the population was satisfactory, with a loss of glomerular filtration rate (eGFR) similar to the expected due to age ($-1 \text{ ml/min/1,73 m}^2/\text{year}$). Nevertheless, in more advance stages of renal disease (G4), albuminuria did not decrease, being associated with a worst prognosis of the patients.

There were differences between men and women in the magnitude of albuminuria, in the prevalence of other risk factors and the prognosis of renal function.

In patients with rapid progression ($\text{eGFR} > 5 \text{ ml/min/1,73m}^2$ of renal function loss) during the follow up, UACR had poor predictive value in women. In this regard, the proteomic biomarker CKD273 could be studied as a marker of progression in women.

During the follow up 44/261 patients died (17%), 32/170 (19%) men and 12/91 (13%) women. Women had lower risk of mortality than men in the analysis adjusted by age, UACR and eGFR.

Finally, prognosis in elderly population (higher tercile, $> 75,8$ years/old) was not worse than younger subjects. There were not differences among terciles in the eventually need of renal replacement therapy and the cutoff point that made the difference, mortality was 63,5 years.

Urinary biomarker CKD273 was associated with the presence of DKD.

Conclusions: In spite of the global evolution of DKD patients treated in accordance with the “state of the art” in the DKD is correct, there are differences between sexes, being albuminuria a poor predictor of rapid progression in women. Moreover, in patients within stage G4 the efficacy of the treatment substantially decreases, so, early referral to the nephrologists is of importance.

New biomarkers as urinary marker CKD273 are a promise in prediction of the progression of DKD.

Abreviaturas / Abbreviations

Abreviaturas / Abbreviations

ACEI: Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors

ACVA: Accidente cerebrovascular agudo

ADA: American Diabetes Association

ADN: Adenosin dinucleótido

ADO: Antidiabéticos orales

AIT : Accidente isquémico transitorio

AKI : Acute Kidney Injury

AngI : Angiotensina I

AngII : Angiotensina II

Anti β 2-GPI IgA: IgA anti-beta2-glycoprotein I

ARA2: Antagonistas del receptor de la angiotensina 2

ARBs: Angiotensin Receptor Blockers

ARP: Actividad de renina plasmática

AUC: Area Under the Curve

BR: Biopsia renal

Cap: Calcio plasmático

Cau: Calcio en orina

CI: Claudicación intermitente

CrCl: Aclaramiento de creatinina

CO₂: dióxido de carbono

CXCL16: Chemokine : C-X-C motif ligand 16- ligando de quemoquina 16 : C-X-C motif

DDVI: Diámetro diastólico de ventrículo izquierdo.

DM: Diabetes mellitus

DMT1: Diabetes Mellitus tipo 1

DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2

DKD: Diabetic Kidney Disease

DP: Diálisis peritoneal

IECA: Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina

ECG: Electrocardiograma

ECV: Enfermedad cardiovascular

EF: Excreción fraccional

EFP: Excreción fraccional de fosfatos

EMA: Agencia europea del medicamento

EPO: Eritropoyetina

ERC: Enfermedad renal crónica

ERCA: Enfermedad renal crónica avanzada

ESH: European Society of Hypertension

ESRD: End Stage Renal Disease

EVP: Enfermedad vascular periférica

FAlc : Fosfatasa alcalina

FA : Fibrilación auricular

FGe : Filtrado glomerular estimado

FLA : Flutter auricular

FRA: Fracaso renal agudo

FRCV: Factores de riesgo cardiovascular

GDF11: Growth differentiation factor 11- factor de diferenciación del crecimiento 11

eGFR: estimated Glomerular Filtration Rate

Hb: Hemoglobina

HbA1C: Hemoglobina glicosilada.

HD: Hemodiálisis

HTA: Hipertensión arterial

HVI : Hipertrofia de ventrículo izquierdo

IAM : Infarto de miocardio

IC : Insuficiencia cardíaca

IECA : Inhibidores del enzima convertidor de angiotensina

IMC : Indice de masa corporal

ISRAA: Inhibidores del Sistema Renina Angiotensina Aldosterona

KDIGO : Kidney Disease: Improving Global Outcomes

K/DOQI : Kidney Disease Outcomes Quality Initiative

Kp : potasio plasmático

Ku : potasio en orina

MMII : Extremidades inferiores

Mg: Magnesio plasmático

Mgu: Magnesio en orina

Nap: sodio plasmático

Nau: sodio en orina

ND: Nefropatía diabética

NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey

PCRhs: Proteína C reactiva de alta sensibilidad

Ps: fósforo sérico

Pu: fósforo en orina

PCSK9: Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9

RRT: Renal Replacement therapy

RTP: Reabsorción tubular de fosfatos

RT: Reabsorción tubular

UACR: Urinary Albumin Creatinine Ratio –Ratio de excrección urinaria de albúmina

UPCR: Urinary Protein Creatinine Ratio- Ratio de excreción de proteínas urinarias.

PTH: Hormona paratiroidea

RAS: Renin Angiotensin System

RCV: Riesgo cardiovascular

RCT: Randomized Clinical Trial

ROS: Reactive Oxygen Species

RT: Reabsorción tubular

SCA: Síndrome Coronario Agudo

SEN: Sociedad española de nefrología

SRA: Sistema Renina-Angiotensina

SRAA: Sistema renina-angiotensina-aldosterona

TA: Tensión arterial

TAS: Presión arterial sistólica

TAD: Tensión arterial diastólica

UACR: Urinary Albumin Creatinine Ratio- Ratio de excreción de albúmina urinaria

US: United States of America

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

VHB: Virus de la Hepatitis B

VHC: Virus de la Hepatitis C

VI: Ventrículo izquierdo

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

WHO: World Heart Organization

Introducción / Background

Introducción / Background

1. Incidence and prevalence of DKD

Diabetes mellitus (DM) is one of the major causes of illness and death, both directly and as a consequence of its secondary complications, particularly cardiovascular disease and chronic kidney disease (CKD). In 2008, about 347 million people had DM worldwide, representing 9.5% of the adult population. (1) This number is expected to increase by more than 430 million people in 2030. Diabetic nephropathy is a severe complication of DM. Diabetic nephropathy or diabetic kidney disease (DKD) has been classically defined by increasing proteinuria and progressive loss of kidney function ultimately requiring renal replacement therapy (RRT) with dialysis or transplantation. (2)

According to the NHANES study, the prevalence of DKD increased between 1988 and 2008 in proportion to the prevalence of DM, from 2.2% in NHANES III to 3.3% in NHANES 2005-2008, despite the use of antidiabetic drugs and RAS inhibitors.(3). The 1988–1994 NHANES III survey (n = 14,622) reported that kidney disease (defined as albuminuria, decreased renal function or both) was present in 42% of US patients with DM. (4)

1.1 DKD in Spain

Epidemiological studies suggest that DM and DKD are under-diagnosed in Spain. The prevalence of DM in Spain is highly variable (4.8-18.7%) in different studies, possibly related to differences in age and diagnostic criteria. Ten years ago it was estimated that 2 million Spaniards had DM and 900,000 to 1,500,000 had DKD (5)(6)(7). In general, patients with T2DM are unaware of their disease. According to a recent survey, 7.1% of Spanish men and 6.8% of women are diagnosed with DM. (<http://www.msssi.gob.es/estadEstudios/estadisticas/encuestaNacional/encuesta2011.htm>). In Spain, the most common known cause of entry into RRT was DM, with 23% of incident patients. The incidence of DM as a cause of ESRD was higher in the Canary Islands than in the rest of Spain. (8)

In the DIABIR retrospective cohort of 541 T2DM patients (53% male, mean age 63 years, HbA1C 7.6%) the incidence of CKD (eGFR <60 ml/min/1.73 m²) was 22.9 %, with only ¼ of these patients diagnosed. The associated risk factors were age (OR 2.07, 95% CI: 1.47-2 per 10-year increase in age.), female gender (OR 2.25, 95% CI: 1.36-3.71) and hyperuricemia (OR 3.15; 95% CI: 1.56-6.37), but not metabolic control. In the PRONEDI study of 133 T2DM patients, average baseline blood pressure was 153±19 / 81±11 mmHg, prior to the intervention with irbesartan, lisinopril or both drugs, illustrating poor control of blood pressure (8).

2. Diabetic Kidney Disease (DKD): The expanded spectrum

The classical spectrum of the disease consisted in the progression from microalbuminuria (urinary albumin creatinine ratio, UACR 30-300 mg/g or albuminuria 30-300 mg/24h) to macroalbuminuria (UACR >300 mg/g or albuminuria >300 mg/24 h). However, in the United States, the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) study noted that 45% of patients with type 2 DM (T2DM) and renal impairment had microalbuminuria, but only 19% had macroalbuminuria. The prevalence of renal insufficiency increased from 14.9% (95% CI, 12.1%-17.8%) in NHANES 1988-1994 to 17.7% (95% CI, 15.2%-20.2%) in NHANES 2005-2008; despite the trend towards a decreasing prevalence of albuminuria, from 27.3% (95% CI, 22.0%-32.7%) to 23.7% (95% CI, 19.3%-28.0%). (3) The EDIC/DCCT study showed that among patients with T1DM and CKD stage 3, 24% had albuminuria <30 mg/24 h, 16% albuminuria 30-300 mg/24h and 61% albuminuria >300 mg/24h before reaching CKD stage 3. (9) In this study, the cumulative incidence of progression to macroalbuminuria in 10 years was 28%, deterioration of the estimated glomerular filtration rate (eGFR) was 15%, progression to advanced CKD 4% and in 40% there was regression to normoalbuminuria. Progression to macroalbuminuria was associated with increased rate of decline in eGFR (6% per year, vs 1% per year in the group with albuminuria <30 mg/24 h) and higher risk of CKD stage 3 (adjusted HR 15). (9) In the United Kingdom Prospective DM Study (n=5,102), 61% of incident patients with T2DM and normoalbuminuria had decreased eGFR, and 39% of those patients never developed albuminuria (10). In NHANES III (n=14,622), 20% of patients with DM and stage 4 CKD (GFR <30 ml/min/1.73 m²) had normoalbuminuria (UACR <30 mg/g)

(11) and in the DEMAND study, 20% of 11,315 patients with T2DM and eGFR <60 ml/min/1.73 m² were normoalbuminuric and 31% had microalbuminuria (12). Non-proteinuric DKD is not limited to the elderly, as it was observed in young patients and T1DM patients (9). Among 105 normoalbuminuric patients with T1DM for ≥10 years and mean age 35 years, 23 (22%) had an eGFR <90 ml/min/1.73 m² (13). However, these patients would not be considered to have CKD by current standards.

The scarcity of renal biopsy data in the diabetic population complicates matters further. (14). In a very small cohort of patients with T2DM who underwent kidney biopsy, classical changes of DKD were observed in 22 of 23 patients with microalbuminuria or macroalbuminuria but only in 3 of 8 patients with normoalbuminuria, suggesting that other factors such as age, blood pressure control and atherosclerosis may contribute to kidney injury.(15)

Thus, the classical paradigm of DKD as characterized in the 1970s in patients with T1DM and also observed in patients with T2DM (16,17), may no longer apply to a substantial proportion of patients. The use of antiproteinuric and other medications, ageing of the population and potential interactions of the natural history of the disease with vascular injury and other comorbidities may underlie the current observation that around 25–35% of patients with DM and decreased renal function have normoalbuminuria or microalbuminuria, questioning the mechanisms that contribute to kidney damage and potential therapeutic targets (9,18). Additionally, repetitive episodes of acute kidney injury (AKI), only partially recovered, hemodynamic changes and renal vascular disease, inflammation, hyperuricemia and direct tubular or vascular toxicity of hyperglycemia can contribute to progression of CKD in diabetics (14,19–22).

Hyperuricemia was associated with hypertension (23) and decreased renal function in 364 patients with T1DM and normoalbuminuria or 311 patients with microalbuminuria (24). In some cohorts, baseline uric acid levels predicted loss of GFR, but not the increase in albuminuria (20).

The dissociation of albuminuria from progressive loss of GFR in some patients raises questions as to the validity of the use of albuminuria to assess the efficacy of therapeutic approaches in randomized controlled trials. Thus, new diagnostic and outcome markers are needed to guide therapy as the spectrum of DKD evolves.

3. Economic and social impact of DKD

CKD is a serious non-communicable disease and DM is the most frequent cause of DKD. Between 2 and 3% of health expenditure in developed countries is used for the treatment of patients with ESRD requiring RRT, while they account for 0.1-0.2% of the population. In developing countries, these costs are unaffordable, so RRT cannot be provided (25). In general, the risk of CKD is bi-directionally affected by the economic development. Poverty increases the predisposition to obesity and DM and its secondary complications. In the economic analysis of NHANES, the lowest socioeconomic quartile had a risk of developing ESRD 60% higher than those in the highest quartile (25,26)

Screening for CKD in DM is cost-effective. Patients with proteinuria may return to normal albuminuria when treated with renal angiotensin system (RAS) inhibitors, ultimately reducing cost and the cumulative incidence of advanced CKD as well as increasing the life expectancy in the DM population (7,27).

4. Risk factors for DKD

Table 1 summarizes the main non-modifiable and modifiable risk factors for the development of DKD. Risk factors such as age, sex, race or genetic predisposition, procoagulant state as well as DM duration are not possible to change, whereas others, as hyperglycemia, hypertension, dyslipidemia, insulin resistance, smoking or lifestyle can be modified (28)

4.1 Genetic predisposition and race

A genetic predisposition to DKD in T1DM and T2DM is independent of hypertension or diabetes onset (29–32). Conflicting evidence has related DKD to SNPs in genes coding for proteins in the RAS (33,34). However, the strongest evidence to date has linked DKD to trypanolytic variants of the APOL1 gene in African Americans (35). GWAS studies have identified additional genetic associations (36). The association with race may be confounded by socioeconomic disadvantages (37). However, even after adjusting for hypertension and socioeconomic status, blacks and Hispanics have higher risk of developing DKD (38).

4.2 Age

The relationship between the age at the onset of DM and the development of DKD is not clear. In some populations this relationship has been described (39), whereas in others there is an inverse correlation between the age onset of T2DM and progression of renal disease, such as in Pima Indians (40). Nevertheless, age is the most common risk factor for the development of CKD, and eGFR usually declines around 1 ml/min/year after 40 years of age. In T1DM, there is a difference between patients developing the disease at the early childhood or puberty. When DM appears before 5 years of age, the risk of DKD seems to be lower than in adolescence.(41) This has been related to hormonal changes in puberty (42).

4.3 Sex

Male sex has been associated with faster progression, although the impact is not as strong as in non-diabetic CKD (43) and indeed, in the Spanish DIABIR study, female gender was associated with CKD category G3-G5(44). In this regard, some systematic meta-analysis and reviews show different results. A recent meta-analysis of data from more than 5 million people released a pooled adjusted risk ratio of DKD of 3.34 (95% CI 2.27, 4.93) in women and 2.84 (95% CI 1.73, 4.68) in men as compared to non-diabetic individuals, this difference was not significant. However, women had a higher risk of ESRD with a pooled adjusted women-to

men relative risk ratio of 1.38 (95% CI 1.22, 1.55; $p=0.114$, $I^2=38.1\%$), leading the authors to assume that women could have an accelerated progression in DKD (45).

In T2DM men have been traditionally associated with worse albuminuria status than women (46,47), as is the case for some T1DM reports (10,48,49). In the historical cohort of Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications study ($n=788$; baseline mean age 27 and diabetes duration 19 years) there was a discrepancy in the results depending on the ages at diagnosis of T1DM. Whereas in people diagnosed from 1950–64, ESRD was more frequent in men than in women, those diagnosed from 1965–80, showed higher incidence of ESRD in women than in men. They found similar results in terms of albuminuria (50).

Thus, there are apparent contradictory data regarding the impact of sex on DKD outcomes. These potential differences may be ascribed to sex hormones or differences in lifestyles between the sexes that may have evolved overtime or differ between countries. In this regard, women with diabetes and cardiovascular disease have been reported to have poorer control of important modifiable risk factors than men and receive less intensified lipid-lowering treatment (51).

Sex hormones could also have a role in the differences between men and women, as estrogens could be renoprotective in diabetic women (52). Estrogens decrease the synthesis of collagen type I and type IV, and increase the expression of matrix metalloproteinases and control the podocyte signaling (52,53). However, the diabetic milieu disrupts in sex hormones due to hyperglycemia (54), and even in non-complicated T1DM, women appear to have higher changes in renal vascular resistance and filtration fraction in the presence of hyperglycemia and treatment with ACEi compared with men (54). In this regard, in large clinical trials studying the effects of ARBs on DKD progression found that albuminuria progressed more rapidly in women compared with men.(43,55,56).

The loss of estrogen effect in post-menopausal women can enhance this negative profile, and the effect of estrogen replacement in post-menopausal women have shown a reduction in proteinuria in T2DM female population (57). Some studies and a review performed in postmenopausal women under low dose of estrogen and progesterone pill reported a better control of diabetes, cholesterol and LDL. (58)

4.4 Hypertension

There is a clear relationship between blood pressure control and the progression of DKD (59). Blood pressure control with RAS inhibitors is recommended by ADA or KDIGO guidelines. (60,61).

4.5 Glomerular filtration rate

Glomerular hyperfiltration leading to high eGFR values is present in around 50% of T1DM patients and is a risk factor for DKD (62). Glomerular hyperfiltration is the result of increased glomerular size and intraglomerular hypertension. In T2DM, especially in the elderly, vascular disease can limit glomerular hypertrophy and hyperfiltration (63).

Hyperfiltration has been associated with faster progression of renal disease, especially in patients with T1DM with poor glycemic control, even before overt albuminuria is established. Patients with glomerular hypertrophy are predisposed to develop proteinuria with the subsequent faster progression of renal disease in T1DM (64). Meta-analysis of cohort studies have shown increased risk of DKD in patients with glomerular hyperfiltration. (65) .

4.6 Glycemic control

Hyperglycemia is the driving force for the development of diabetic complications. Tight glycemic control prevents development of micro and macrovascular complications.

4.7 Smoking

Tobacco consumption was associated with renal impairment and proteinuria in a population without hypertension or abnormal glucose metabolism, and increases the risk to develop microalbuminuria, accelerates the rate of progression from microalbuminuria to manifest proteinuria, and accelerates progression of renal failure (66,67). In men, the risk of progression after quitting the habit decreased, being almost the same as in non-smoking men, whereas

ex-smoker women had the same risk of current smokers (66). In the HUNT II study of 65589 subjects, the risk of kidney failure was higher in male smokers than in women, and the risk decreased significantly when they stopped smoking (68). However, there were very few diabetic patients. A population based study with 926 cases of Swedish patients with CKD found that cigarette smoking increased the progression of CKD in both men and women. There was a positive association with DKD in women, but due to the small number of patients the comparison between genders was avoided (69).

4.8 Obesity and hyperlipidemia

Obesity precedes and is strongly associated with T2DM. In obese patients with T2DM, weight loss reduces albuminuria in the early stages of DKD (70). Metabolic syndrome comprises abdominal obesity, dyslipidemia, hypertension, insulin resistance and hyperglycemia, and has been associated with almost a 4-fold increased risk of DKD in diabetic population (71).

4.9 Systemic inflammation

DKD is a chronic inflammatory disease. Circulating levels of inflammatory markers are higher in DKD and are thought to contribute to DKD progression (72).

Table 1. Major risk factors for developing DKD

Non-modifiable
Genetic predisposition and race Age Sex?
Modifiable
Hyperglycemia Hypertension Glomerular filtration rate Obesity, dyslipidemia and metabolic syndrome Smoking Systemic inflammation

5. Clinical stages and evolution

The complexity of DM management and control of complications requires interventions going beyond the glycemic control.

Guidelines provide general recommendations in terms of screening, diagnosis and treatment, and emphasize the importance of a multidisciplinary team that includes endocrinologists, nephrologists, specialized nursery, nutritionists, and other medical specialties (60).

In terms of screening, ADA guidelines recommend annual urinary test to evaluate urine albumin excretion in T1DM with more than 5 years with DM, and in all T2DM patients from the moment of diagnosis (B). Assessment of urinary albumin excretion and serum creatinine is reasonable (E), and other complications of decreased renal function must be also monitored (E), referring the patient to the nephrologist if persistent albuminuria develops (30-299 mg/24h). Urinary albumin excretion can be assessed as urinary albumin to creatinine ratio (UACR) in a spot collection or urinary albumin excretion in a 24 hour urine collection, nevertheless, 24 hour urine collection is more difficult to perform and does not provide better information. (60).

Urinary albumin excretion is very variable, increasing with infection, hyperglycemia or heavy exercise. Thus, two or three samples should be collected within 3-6 months to consider that patients have renal complications.(61). All DM patients must have a serum creatinine measurement, regardless their urinary albumin level, to estimate the GFR measured by the CKD-EPI equation (73).

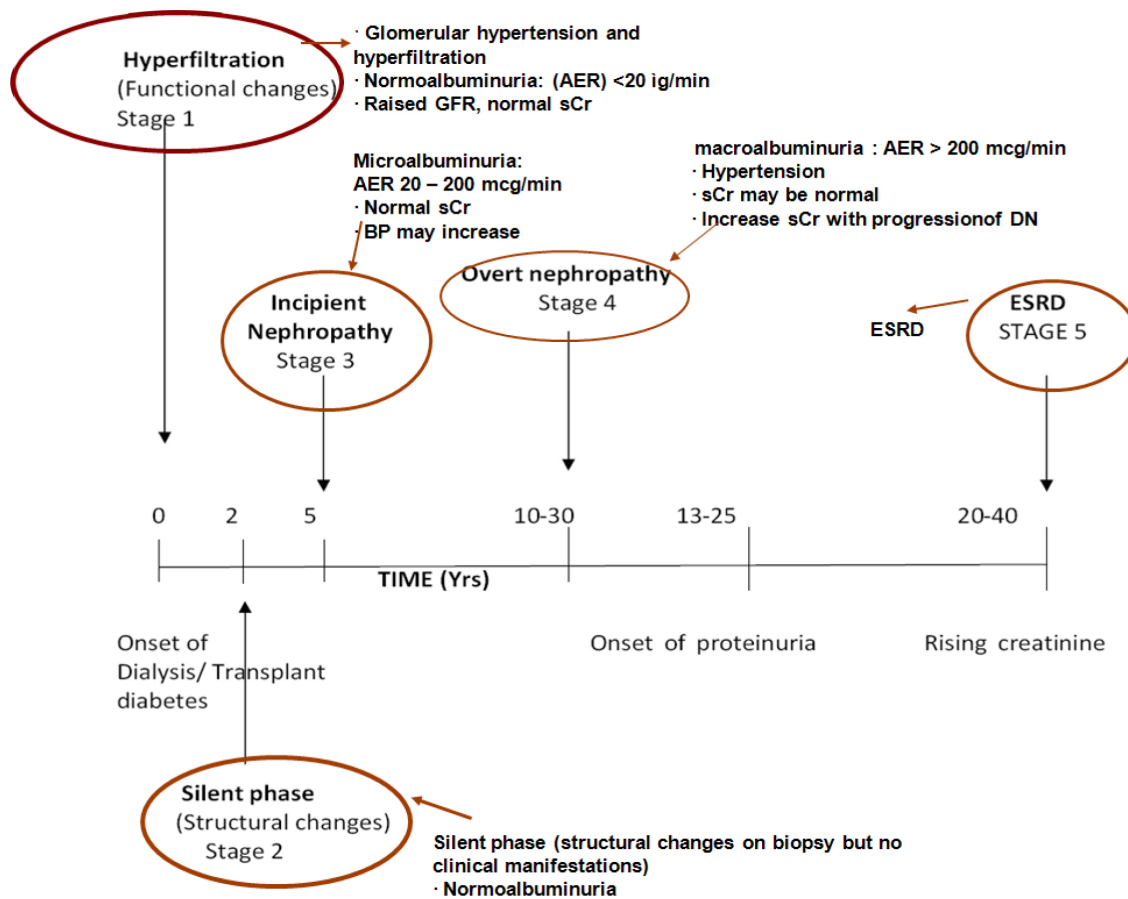


Figure 1 Classical pattern of clinical stages of DKD.

6. Pathogenesis

Hyperglycemia is the main trigger of the complications of DM. The only current treatment with real impact on the progression of DKD is RAS blockade, directly implicating components of the RAS in the pathogenesis of DKD. However, there are additional pathogenic mechanisms that merit attention (Table 2).

Table 2. Mechanisms contributing to DKD

Impaired renal hemodynamics
Hyperglycemia
Podocyte injury: dysfunction and podocytopenia
Inflammation - cytokines

6.1 Impaired renal haemodynamics

Healthy kidneys regulate blood flow through each glomerulus via the juxtaglomerular apparatus (74), but hyperglycemia induces glomerular hypertrophy and hyperfiltration very early in the course of the disease through impaired tubuloglomerular feedback by. RAS blockade reverses hyperfiltration.(75) However, recent experience with SGLT2 inhibitors suggests that there is margin for further reversal of hyperfiltration if tubuloglomerular feedback is restored (76).

6.2 Hyperglycemia

Hyperglycemia promotes extracellular matrix deposition, renal cell injury, inflammation and podocyte loss. Several pathways are hypothesized to be activated by hyperglycemia in DKD, including (75) :

1. Formation of advanced glycosylation end-products (AGEs). Excess glucose or glucose degradation products combine with aminoacids creating AGEs. Initial AGEs are reversible, but chronic hyperglycemia makes them irreversible. AGEs alter protein function and activate specific AGE receptors (RAGE) to promote inflammation.
2. Oxidative stress, leading to cell injury, NFκB activation and inflammation.
3. Activation of the polyol pathway through upregulation of aldose reductase.

6.3 Podocyte injury

Podocyte dysfunction in DM leads to foot process effacement, and podocyte loss and death. High glucose levels, GDPs, AGEs, angiotensin 2 and inflammation may injure the podocyte in DM (77,78). Insulin signaling is required in podocytes for translocation of glucose as energy source (79). In animal models, decreased podocyte insulin sensitivity leads to DKD (80).

Podocytes secrete paracrine factors, such as VEGF A, that promote glomerular filtration barrier integrity (81). Decreased or increased VEGF A damages the glomerular filtration barrier (82).

6.4 Inflammation: cytokines

Several inflammatory mechanisms have been related to the progression of DKD, including cytokines, chemokines, adhesion molecules, enzymes and growth factors (83). Inflammatory cytokines and chemokines related with DKD which are undergoing clinical trials are discussed below (83,84).

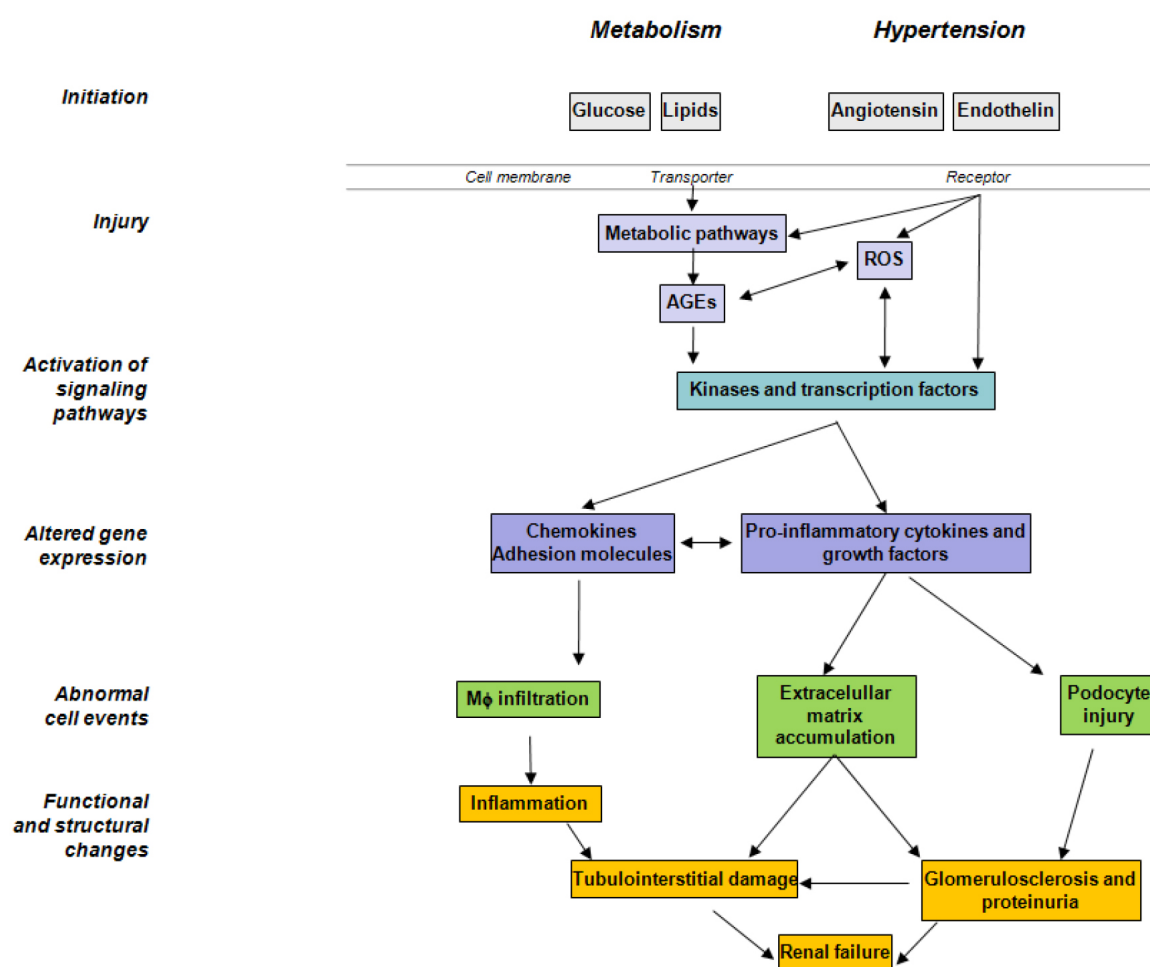


Figure 2: Potential pathogenic mechanisms in DKD.

7. Pathology

In 2010, the Renal Pathology Society classified for DKD into four progressive classes (Table

3) (85). This new classification characterizes glomerular, interstitial and vascular lesions. The panel of experts considered that glomerular lesions were the best to assess progression as well as the most inter-observer reproducible. DKD is usually not biopsied, but there is an increasing interest in performing renal biopsies for clarifying and better describe the renal lesions. From the histological point of view, progressive disease is characterized by loss of renal parenchyma, inflammation and extracellular matrix accumulation.

Table 3: Renal Pathology Society classification for DKD

Class	Description	Inclusion Criteria
I	Mild or nonspecific LM changes and EM-proven GBM thickening	Biopsy does not meet any of the criteria mentioned below for class II, III, or IV GBM > 395 nm in female and >430 nm in male individuals 9 years of age and older ^a
IIa	Mild mesangial expansion	Biopsy does not meet criteria for class III or IV Mild mesangial expansion in >25% of the observed mesangium
IIb	Severe mesangial expansion	Biopsy does not meet criteria for class III or IV Severe mesangial expansion in >25% of the observed mesangium
III	Nodular sclerosis (Kimmelstiel–Wilson lesion)	Biopsy does not meet criteria for class IV At least one convincing Kimmelstiel–Wilson lesion
IV	Advanced diabetic glomerulosclerosis	Global glomerular sclerosis in >50% of glomeruli Lesions from classes I through III

LM, light microscopy.

^aOn the basis of direct measurement of GBM width by EM, these individual cutoff levels may be considered indicative when other GBM measurements are used.

Lesion	Criteria	Score
Interstitial lesions		
IFTA	No IFTA	0
	<25%	1
	25% to 50%	2
	>50%	3
interstitial inflammation	Absent	0
	Infiltration only in relation to IFTA	1
	Infiltration in areas without IFTA	2
Vascular lesions		
arteriolar hyalinosis	Absent	0
	At least one area of arteriolar hyalinosis	1
	More than one area of arteriolar hyalinosis	2
presence of large vessels	–	Yes/no
arteriosclerosis (score worst artery)	No intimal thickening	0
	Intimal thickening less than thickness of media	1
	Intimal thickening greater than thickness of media	2

IFTA: interstitial fibrosis, tubular atrophy

8. Finding new markers in CKD

Microalbuminuria is the major risk biomarker available for progressive renal dysfunction and cardiovascular risk. In fact, eGFR and albuminuria are used for staging DKD or any other CKD. However, the existence of renal disease without significant albuminuria is increasingly recognized and the failure of classical clinical test to predict progression of the disease in a significant subset of patients suggests the need for new additional biomarkers that allow us to stratify the risk of progressive nephropathy in patients without significant albuminuria. In this sense, systems biology techniques offer the opportunity to find new markers. Specifically, human renal tissue transcriptomics and urinary metabolomics and proteomics have provided new insights into DKD (86).

Proteomics is the analysis of a large number of proteins or polypeptides in tissues and body fluids. Urine sampling is a non-invasive and reproducible method for peptide fingerprinting (86). CKD273 is a urinary proteomics-based biomarker panel identified by capillary electrophoresis–mass spectrometry (CE/MS) that includes 273 peptides. Among those, collagen fragments are reduced, suggesting that an insufficient turnover of extracellular matrix contributes to renal fibrosis in DKD (87). In two independent longitudinal studies with samples collected over 10 years, CKD273 was altered between 1 and 2 years before the development of microalbuminuria

and between 3 to 45 years before macroalbuminuria in DKD (88). Moreover, irbesartan treatment for two years improved the CKD273 pattern (89).

The CKD273 classifier is robust and can be applied to the clinic with very attractive results, these analyzes is showing a sensitivity of 85.8% and a specificity of 100% for CKD (90). Analysis of 86 samples (45 cases and 41 controls) in three different laboratories in Germany, France and UK yielded correlation coefficients of 0.881 to 0.904 (91). CKD273 was subsequently successfully applied to 88 samples of the PREVEND study (Prevention of Renal and Vascular End-stage Disease) for the evaluation of early renal risk in DM (92). In 35 patients with T1DM1 or T2DM with normoalbuminuria, CKD273 predicted the development of microalbuminuria 5 years later, with an AUC of 0.93 (93). CKD273 was shown as a valid instrument for assessing the prognosis, progression and severity of CKD (94). The PRIORITY study, which is ongoing, is using the CKD273 classifier to identify normoalbuminuric DM patients at high risk of progressing to microalbuminuria in order to test the hypothesis that early identification and treatment of such high risk patients with spironolactone may improve outcomes. The primary endpoint is the development of microalbuminuria (<http://www.eu-priority.org/>).

Recently, metabolomics profiling has identified a urinary metabolite profile that separates patients progressing from normoalbuminuria to microalbuminuria those who remain normoalbuminuric (86).

Recently, the first proteomic study of urinary exosomes in human DKD and control subjects identified 352 proteins. After comparing quantitatively exosomes of diabetic patients with the control group, a panel of 3 proteins (AMBP, MLL3 and VDAC1) changed in DKD, opening a door to the future diagnosis and assessment of the evolution of diabetic patients using this technique (95).

8.1 Defining new biomarkers: CXCL16, PCSK9 and GDF11

Based on in-house analysis of kidney injury transcriptomics databases and literature data-mining, we have identified several potential candidate biomarkers in the context of DKD.

CXCL16 is a CXC chemokine and a scavenger receptor (96). In humans, high circulating

CXCL16 levels have been associated to kidney and cardiovascular disease. CXCL16 was originally described as a scavenger receptor for phosphatidylserine and oxidized LDL (96). CXCL16 is increased in kidney (97) and urine in CKD, and targeting CXCL16 could improve kidney damage. Circulating CXCL16 was found increased in a Chinese CKD cohort (98). CXCL16 is synthesized as an intracellular precursor that is transported to the cell surface after glycosylation. The molecule has two portions; one of them is cleaved at the cell surface, having a chemokine domain and a C-terminal fragment. The soluble portion of CXCL16 acts as a chemokine for leukocytes expressing CCR6 (96).

In a previous study in our DKD cohort, plasma CXCL16 levels were 4.0 ± 0.9 ng/ml, and values increased with decreasing eGFR as well as with increasing albuminuria category. Plasma CXCL16 was higher in patients with prior cardiovascular disease (4.33 ± 1.03 vs 3.88 ± 0.86 ng/ml; $p=0.013$). In multivariate analysis, eGFR and serum albumin had an independent and significant negative correlation with plasma CXCL16 (99).

Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (PCSK9) is a downregulator of hepatic LDL receptor (LDLR) expression that promotes hypercholesterolemia (100). Autosomal dominant mutations that activate PCSK9 promote familial hypercholesterolemia resistant to conventional statin treatments, with development of ischemic disease (101). In renal disease, elevated plasma PCSK9 also increase LDL cholesterol levels in nephrotic syndrome and peritoneal dialysis (102). PCSK9 inhibitors have been recently developed for treating familial hypercholesterolemia on top of the current lipid lowering treatments (103,104).

In a previous study performed within our DKD cohort, plasma PCSK9 did not relate to eGFR or albuminuria status. However, it was higher in patients on fibrate and statin therapy (105).

Growth differentiation factor 11 (GDF11) is a member of protein/transforming growth factor-beta superfamily, with roles in kidney organogenesis and tissue homeostasis (106). In mice, GDF11 decreased with age, and GDF11 can improve age-related cardiac changes (107,108). Higher levels of GDF11 have been also associated with better cardiovascular profile in humans (109). One study disclosed higher serum GDF11 levels in hemodialysis patients (110). Studies

in T2DM patients found association between macroangiopathy and GDF11 levels after adjusting for use of statins and RAS inhibitors. Plasma GDF11 was not associated with diabetic microangiopathy. The correlation between GDF11 and age found in control subjects was lost in DM patients (111). Other studies did not find diabetic patients with or without cardiovascular damage or glycemic control to have different levels of GDF11.(112)

Anti β 2GPI IgA antibodies: The principal antigen for anti-phospholipid antibodies is the β 2-glycoprotein (β 2GPI) While IgG and IgM anti- β 2GPI define anti-phospholipid syndrome, there is no current standardization for the determination of IgA anti- β 2GPI. However, IgA anti- β 2GPI has been described as a new biomarker for patients with high risk of thrombosis (113), in lupus (114) seronegative anti-phospholipid syndrome (115) and chronic kidney disease (116).

Some authors have described an association between high levels of anti- β 2GPI antibodies and atherosclerotic events, cerebral ischemia, myocardial infarction, peripheral artery disease and carotid disease (117,118). In CKD transplanted patients, IgA anti- β 2GPI was associated with graft loss (119).

9. Prevention and treatment of DKD

After the development of persistent albuminuria, strict glycemic control, the decrease in blood pressure and an adequate lipid profile have been associated with better prognosis (120). Treating CKD complications and early referral to nephrologists improves the prognosis of DM patients and delays the need for renal replacement therapies.

The use of RAS inhibitors, adequate glycemic control (61), cholesterol lowering therapies, correction of metabolic acidosis and self-care may delay the deterioration of renal function and may further reduce the risk of cardiovascular death.

9.1 Glycemic control

ADA guidelines recommend the optimization of glycemic control to reduce the risk of progression of DKD with grade A evidence (121). HbA1C levels below 7% decreases the risk

of complications in T1DM and T2DM.

Strict control of blood HbA1C delays the development of renal complications in the medium and long term also in T1DM. In the DM Control and Complications Trial (DCCT), intensive glycemic control reduced the incidence of microalbuminuria by 39% and macroalbuminuria by 56% (122). Long-term follow-up (22 years) in the EDIC study disclosed that those treated in the past with intensive control (HbA1C target <6.8%) had delayed development of renal disease (123).

The ADVANCE clinical trial also showed that intensive glycemic control significantly reduced the risk of ESRD by 65%, microalbuminuria by 9% and macroalbuminuria by 30% (124).

Although PPAR γ agonists seemed to have promising renoprotective effects, the serious adverse effects of both pioglitazone and rosiglitazone (bladder cancer and cardiac ischemia, respectively) led to termination of clinical trials (124–126). Linagliptin may reduce albuminuria in patients with T2DM, and this effect may in part be independent of their actions at the level of glucose (127).

Inhibitors of co-sodium-glucose transporter 2 (SGLT-2) decrease the renal reabsorption of glucose (127,128). The recent EMPA-REG trial demonstrated a dramatic benefit in terms of loss of eGFR and mortality (129). Ongoing studies as such RED (NCT 02682563) or CREDENCE (NCT02065791) are exploring the beneficial effects of SGLT2 inhibitors beyond glycemic control in renal disease, as the primary endpoint will be end stage renal disease and renoprotective effects of these drugs.

9.2 Blood pressure control

In 2007, KDOQI guidelines for DM and CKD recommended a blood pressure target for DKD patients of $\leq 130/80$ mmHg (130). The 2012 KDIGO guidelines recommend a target of $\leq 140/90$ mmHg for normoalbuminuric patients with DM (9,61,131). The current KDIGO target in diabetic patients with CKD and albuminuria is $\leq 130/80$ mmHg (61). By contrast, 2014 ADA guidelines recommend that blood pressure should be $<140/80$ mmHg, although in young patients or pregnant women a systolic blood pressure target of <130 mmHg could be suitable

(132,61)Patients with long life expectancies are considered to be candidates for lower blood pressure goals than older patients because of the beneficial effects of lowering blood pressure on albuminuria.

9.3 Antiproteinuric medication

Nephroprotection based RAAS blockade is indicated as antiproteinuric therapy. ACEi or ARBs are the drugs of choice. (60,61,131).

NKF and AHA recognize CKD as a CVD risk factor. ACEi reduce major CVD outcomes in patients with DM (133) and ARBs reduce the rate of progression from micro to macroalbuminuria in patients with T2DM (134,135).

While RAS blockade with ACEi or ARB is generally safe, there are concerns about the efficacy and safety of the combination of those two drugs.

One of the most important trials conducted in 2003, the COOPERATE study, performed in non-DKD, trandolapril 3 mg or losartan 100 mg or the combination of both drugs to a Japanese population for 3 years-time showed impressive good results in progression of CKD, but, after the evaluation of the trial, serious concerns about the authenticity of the results were raised, without right results in terms of BP control of patients (136).

Regarding the secondary effects of the combination, dual blockade can cause hyperkalemia, acute kidney failure or orthostatic hypotension (137). Other reported effects are dizziness, cough and allergies to the components of the drug.

The most important trial assessing dual blockade of RAS has been the ONTARGET study (Ongoing Telmisartan Alone and in combination with Ramipril Global Endpoint Trial) trial, assessing the combination of ramipril 10 mg a day (ACEi) with telmisartan 80 mg a day (ARB), including subjects older than 55 years with DM, organ damage and vascular disease. Subjects were given telmisartan, ramipril or the combination of both, for a median of 56 months. Higher reductions of Blood pressure were observed in patients under double blockade compared with single treatment, with decreased of proteinuria levels, in the combination group (HR 0.76, 95%

CI 0.60 to 0.96, $P = 0.019$), compared with ramipril group, but the incidence of inclusion in Renal replacement therapies (dialysis, transplantation) or death were augmented in patients under double blockade of RAS. (HR 1.09, 95% CI 1.01 to 1.18, $P = 0.037$).

The adverse renal outcomes were strong enough to stop the medication as well as hyperkalemia that was higher in patients in the arm of combination treatment (138).

On 23 May 2014 the European Medicines Agency's Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) endorsed restrictions on combining ARBs, ACEI and direct renin inhibitors such as aliskiren. The CHMP confirmed recommendations made by the Agency's Pharmacovigilance Risk Assessment Committee (PRAC) in April 2014. The document specifically cited evidence from the ONTARGET(139), ALTITUDE (140) and VA NEPHRON-D (141) trials and from a meta-analyses of >68,000 patients (142) that concluded that dual RAS blockade through the combined use of ACEI, ARBs or aliskiren is associated with an increased risk of adverse events, including hypotension, hyperkalemia and renal failure compared with monotherapy, in particular in patients with DKD. These studies supported that dual RAS blockade does not provide significant benefit in the general patient population (143).

9.4 Control of lipids and other diabetic risk factors

Obesity precedes and is strongly associated with T2DM, and weight reduction is considered a first step in combating T2DM and its complications. In obese T2DM patients, weight loss reduces albuminuria in the early stages of the disease. In obese individuals with advanced DKD (eGFR <40 ml/min/1.73 m², urine albumin excretion >30 mg/d) a 12-week very low calorie ketogenic weight reduction diet with encouragement of exercise led to a 12% reduction in weight, a 36% reduction in albuminuria and significant reductions in serum creatinine and cystatin C as well as an improvement in DM control (144). Patients with T2DM have an increased prevalence of lipid abnormalities, contributing to their high risk of CVD. The dyslipidemia pattern in DM includes hypertriglyceridemia, low LDL levels, increased small and dense LDL particles and increased oxidized LDL. 2013 KDIGO guidelines recommend that all diabetic adults with CKD should be treated with statin or statin/ezetimibe combination

independently of LDL cholesterol levels(145). These recommendations are in line with recent 2013 ACC-AHA recommendations (133). Combination therapy (statin plus fibrate, statin plus niacin) is associated with an increased risk for adverse events (abnormal transaminase levels, rhabdomyolysis) and absence of evidence of improved patient outcomes and is not currently recommended by clinical guidelines (2,132,146).

The overall benefits of statin therapy in diabetics at moderate or high risk for CVD are undeniable. Multiple trials have confirmed the cardiovascular benefits of treatment with statins. Some smaller trials suggested a potential effect of statins on delaying progression of DKD. However, a large clinical study, the Study of Heart and Renal Protection (147) does not support that statins could reduce ESRD in CKD (148).

9.5 Protein restriction

Reduction of protein intake to 0.8-1.0 g/kg/d has been suggested to be nephroprotective in patients with DKD. Protein restriction decreases UACR and slows the loss of GFR, and is recommended in the ADA guideline (B recommendation) (132,149).

9.6 Multitarget approaches

Studies like Steno2 in patients with hypertension, microalbuminuria and T2DM whose therapeutic targets were strict control of HbA1C <6.5%, TAS <130 mmHg, TAD <80 mmHg, fasting cholesterol <4.5 mmol/L and fasting triglycerides <1.7 mmol/l, using treatment with RAS inhibitors, aspirin, statin, lifestyle changes and several antidiabetic drugs showed that a multitarget therapeutic approach could decrease proteinuria by 60% and cardiovascular events by 50% in patients with T2DM followed for 8 years. (150). After 13 years, the benefit of treatment persisted, despite intensive multifactorial treatment stopped about 5 years earlier (151).

9.7 New therapeutic approaches

Despite major advances in the knowledge of molecular and cell signaling pathways involved in kidney injury, few new drugs are coming into the market to treat DKD. In the past few years, a series of randomized controlled trials that investigated new approaches to DKD have provided negative or inconclusive data or were terminated due to safety concerns or a lack of efficacy (84,152)

Several problems with testing new approaches to therapy in DKD impair the ability to identify therapeutic agents and might have contributed to the paucity of clinical advances in the past 10 years. Thus, renal disease in T2DM might be heterogeneous both in terms of the underlying cause of kidney injury and of the stage of the disease, the use of surrogate end-points such as albuminuria as primary outcome may lead to missing an effect on GFR, this is compounded by the reliance on eGFR rather than on measured GFR, and the short-term nature of the studies may miss longer term effects that have become apparent decades later in some of the older studies.

Currently ongoing randomized controlled trials in DKD are further exploring already tested concepts, old drugs (e.g. allopurinol) or novel therapeutic approaches (e.g. targeting fibrosis or inflammation). Inflammation is considered a key contributor to progression of DKD and positive results were recently reported for antiinflammatory agents in clinical trials (153).

A key ongoing phase 3 trial is testing atrasentan, and it might result in a new therapeutic indication, while most other trials will provide proof-of-concept. Most clinical trials of nephroprotective agents in DKD use albuminuria as the primary outcome because this design enables a shorter follow-up duration and smaller sample size, but most of them are phase 2 trials that must be validated in phase 3 trials, assessing eGFR (84,154).

9.7.1 Optimizing already tested approaches or drugs

Not all drugs tested in RCT in DKD are brand new; however, some ongoing trials are exploring new molecular mechanisms that have already been successfully targeted for kidney damage or

other diseases.

- **Vitamin D receptor (VDR) activators.** VDR activation has anti-inflammatory, immunologic and nephroprotective actions (155) and vitamin D deficiency is associated with inflammation, immune dysfunction, endothelial dysfunction and cardiovascular disease in humans. Podocytes express VDRs and this activation of podocyte VDR can directly decrease the inflammatory response of these cells to high glucose level, protecting them from inflammation or fibrosis triggered by metabolic abnormalities (156). In animal models of DM, VDR deficiency increased albuminuria, whilst VDR activation by paricalcitol (19-nor-1,25-(OH)₂-vitamin D₂) or calcitriol decreases proteinuria and had anti-inflammatory effects (156,157). In small cohorts paricalcitol decreased proteinuria, and had clinical advantages over the natural VDR ligand calcitriol in terms of adverse effects on serum calcium and phosphorus levels. (157–159). However, a phase 2 RCT (VITAL) exploring the antiproteinuric effect of 1 µg or 2 µg/24h paricalcitol as add-on to RAS blockade in CKD stages 2–4 DKD, failed to meet the primary end-point (change in UACR at 24 weeks: between group difference for paricalcitol versus placebo of -15%, p=0.071) (154). Post-hoc analysis found that the higher dose decreased albuminuria in patients with higher salt intake. One of the limits for this study was that there was a high prevalence of vitamin D deficiency that did not allow the investigators to differentiate between therapeutic effects of paricalcitol from replacement of nutritional vitamin D (160).

The ongoing PROCEED trial (<http://www.clinicaltrials.gov>) is exploring the antialbuminuric effect of 2 µg/24h paricalcitol or placebo for 4 months on top of RAS blockade in patients with T2DM and UACR>300 mg/24h with low or high salt consumption in diet, so as to explore the relationship between VDR activators and salt.W

- **Endothelin receptor antagonists.** Endothelins are small pleiotropic peptides that promote hypertension, albuminuria, insulin resistance, inflammation, fibrosis and endothelial dysfunction. Endothelin-1 activates the receptors ETA, ETB1 and ETB2 (161). ETA activation is thought to have disease-causing effects, whereas ETBs are natriuretic (161–163). However, even very selective ETA blockers cause fluid retention. This side effect led to the termination of a phase 3 trial of avosentan in

DKD, despite a significant reduction in albuminuria (44-49% as compared with 10% for placebo) when added to RAS blockade (164). In phase 2 trials atrasentan, a more selective ETA antagonist, reduced UACR by 35-42% versus 11% for placebo in DKD. But once again, atrasentan caused dose-dependent peripheral edema (18%-46% of patients) (165). A larger phase 2 trial (RADAR) confirmed a reduction of albuminuria of 35-38%, but found no differences in peripheral edema, nonetheless patients under atrasentan increased their weight and diminished their hematocrit, suggesting volume overload (166). The ongoing SONAR phase 3 trial has very narrow inclusion criteria for avoiding the risk of fluid overload. SONAR is assessing the effect of atrasentan versus placebo as add-on to RAS blockade in 4148 patients with T2DM, eGFR 25–75 ml/min/1.73 m² and UACR 300–5000 mg/g (www.clinicaltrials.gov). The primary outcome is time to the first occurrence of a composite renal end point (doubling of sCr levels or development of ESRD). SONAR is expected to be completed by February 2017.

- **Mineralocorticoid receptor antagonists.** Aldosterone secreted in response to RAS activation binds and activates the mineralocorticoid receptor to regulate sodium balance and to promote inflammation and fibrosis (167) . Mineralcorticoid receptor antagonists, added on top of RAS inhibitors decrease albuminuria in DKD and non-diabetic CKD, but their effect on long-term renal function has not been explored and may increase the risk of hyperkalemia. (143) (168,169). The PRIORITY clinical trial is investigating the efficacy of the non-expensive, first generation mineralocorticoid receptor antagonist spironolactone for prevention of albuminuria in T2DM patients with normoalbuminuria at high risk of progression based on urinary proteomics assessment (www.eu-priority.org/) (169).

Completed phase 2 trials have tested whether the newer, selective, nonsteroidal mineralocorticoid receptor antagonist MT-3995 or finerenone (BAY 94-8862) as added on to RAS blockade, decrease albuminuria without increasing risk of hyperkalemia in DKD (eGFR 30-60 ml/min/1.73 m² and albuminuria ≥300 mg/g). Finerenone has been reported to be safe, reaching the endpoints of decreasing UACR and blood pressure at 3 months (170).

499 failed to meet the primary endpoint (change in UACR after 24 weeks) in 182 patients with T2DM DKD (UACR 300–5000 mg/g; eGFR 23–89 mL/min/1.73 m²), although there was a trend towards a milder increase in UACR (24 mg/g versus 222 mg/g on placebo, $p = 0.13$) in the phase 2 trial, with an increase in serum creatinina after 48 weeks lower in patients under CTP-499 (178). Unfortunately, no phase 3 RCT has been posted in clinicaltrials.gov webpage, on 1st January 2017.

PF-00489791, a PDE5 inhibitor used as an oral treatment available for erectile dysfunction, has found an application in DKD, as far PF-00489791 for 16 weeks significantly reduced UACR by 16% (Abstract: Singh, B, Diamond, SA, Pergola, SE, et al. Effect of CTP-499 on renal function in patients with type 2 diabetes and kidney disease. Am J Kidney Dis. 2014; 63, A1–A120).

9.7.2 Novel therapeutic approaches

Some trials are exploring or have recently explored novel therapeutic targets or drugs in DKD.

- **Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) activators.** Bardoxolone methyl is a synthetic triterpenoid activator of the transcription factor Nrf2 and an inhibitor of nuclear factor κ B (NF- κ B)). After the good results of phase 2 RCT in DKD with an increase of eGFR in the context of increasing blood pressure and albuminuria, a phase 3 RCT was performed (179).

Bardoxolone methyl induced hypomagnesemia, anorexia and weight loss, with fluid retention and increased mortality in the Bardoxolone group, that motivated the early termination of the phase 3 RCT (180). Bardoxolone methyl is currently being explored in a RCT in the Japanese population, which is expected to have a lower sensitivity to cardiovascular side effects.

Several issues remain unsolved. The fast time-course of the increase in eGFR suggests a hemodynamic basis. In this case, bardoxolone methyl actions would be the complete opposite to the current standard of therapy (RAS blockade) by increasing GFR, albuminuria and blood pressure through a hemodynamic effect.

- **Chemokine inhibitors.** High glucose elicits a proinflammatory response in tubular cells and podocytes characterized by chemokine secretion that promotes kidney

- **Xanthine oxidase inhibitors.** DKD progression has been linked with high levels of uric acid (20). After some open Label Clinical trial explored the renoprotective effects of allopurinol (171). ongoing clinical trials assessing nephroprotection using xanthine oxidase inhibitors allopurinol and febuxostat. PEARL, a phase 3 RCT tried to address renal effects of allopurinol in 480 patients with T1Dm, albuminuria and early stages of CKD (172) and FEATHER clinical trial will assess the nephroprotective effects of febuxostat in diabetic and non-diabetic patients with hyperuricemia. (173). Another phase 2 clinical trial, UPWARD, is currently evaluating the antialbuminuric effects of topiroxostat, a new xanthine oxidase inhibitor. The study has been recently completed for primary outcome measure ([NCT02327754](#)).
- **Phosphodiesterase inhibitors.** Phosphodiesterases (PDE) 1 to 12 are enzymes catalyzing the breakage of a phosphodiester bond, however, this term is currently used cyclic nucleotide phosphodiesterases (174)
- **Pentoxifylline**, a nonselective PDE inhibitor is known and used for peripheral vascular disease and has been widely used for its anti-inflammatory actions (175). Previous meta-analysis found that pentoxifylline decreased albuminuria, with no effects on eGFR or blood pressure, although those studies were not homogeneous or well designed (176). The Spanish open-label, not placebo-controlled, RCT Pentoxifylline for Renoprotection in Diabetic Nephropathy (PREDIAN) study assessed the efficacy of 1200 mg/day of pentoxifylline added to maximized RAS inhibition on renal progression in T2DM patients with CKD stages 3–4 (83). The majority of the patients had albuminuria (A3, > 300 mg/g). Pentoxifylline slowed down the progression of renal damage, by 2.1 ± 0.4 ml/min/1.73 m² in the pentoxifylline group compared with 6.5 ± 0.4 ml/min/1.73 m² in the control group at 24 months. Albuminuria was also reduced. Unfortunately, low cost and broad availability of the drug decrease the chances of being explored in a RCT financed by private companies.

Another selective inhibitor of PDE3, 4 and 5, that incorporates deuterium to the pentoxifylline molecule, **CTP-499**, has been addressed in phase 2 RCT.(177) . CTP-

inflammation (181). CCL2 is a chemoattractant for monocytes, memory T cells and NK cells that activates chemokine receptor 2 (CCR2) and CCR4. Inhibition of CCL2 or its receptor has been shown to decrease albuminuria and inflammation in renal disease, including DKD (181) (182). CCX140B and emapticap pegol are in clinical development.

The **CCR2 inhibitor CCX140** decreased albuminuria, podocyte injury and improved glycemic control in diabetic transgenic human CCR2 knock-in mice (23986513). In human DKD patients on RAS blockade, pathological UACR and eGFR ≥ 25 ml/min/1.72 m², CCX140-B decreased albuminuria by 10-15% at 1 year as compared to placebo. In a pre-specified subgroup with high baseline UACR (>800 mg/g creatinine), CCX140-B resulted in a placebo-corrected 28% reduction in albuminuria, and slower rate of decline in eGFR with the antialbuminuric effect persisting for more than 1 month after withdrawal of the drug. There was better profile with 5 mg/d over 10 mg/d, with an improvement of fasting plasma glucose, with few adverse events(183).

The **CCL2 inhibitor emapticap pegol** (RS102895, NOX-E36) blocks CCL2/CCR2 signaling, decreasing DKD in mice, by preventing macrophage infiltration and oxidative stress and preserving podocyte nephrin and VEGF expression (184). Emapticap has been assessed in a phase 2a RCT with 75 T2DM on RAS blockade and albuminuria. Subcutaneous administration of the drug (0,5 mg/kg/bw) for 12 weeks with a free treatment observation phase of another 12 weeks showed a trend towards reduction of UACR and HbA1c, after 1-2 months off therapy: the effect on UACR peaked at 2 months off therapy (-26%, $p=0.064$). The secondary analysis of the data, excluding patients under dual blockade of RAS, major protocol violations and different kidney etiologies, disclosed a significant 39% reduction in UACR without important hemodynamic alterations. (Haller HG et al 51st ERA-EDTA Congress, Amsterdam, 2014). Emapticap pegol is a Spiegelmer, a L-stereoisomer oligonucleotide aptamer, a CCL2-binding chemically synthesized mirror-image aptamer consisting of L-ribonucleotides (185). Spiegelmers are biologically very stable and immunologically passive because of their non-natural mirror image conformation. The L-aptamer does not interfere with CCL2 dimerization and vice

versa, dimerization does not interfere with L-aptamer binding. This is of importance because dimers or higher-order oligomers are the likely CCL2 forms in vivo (185).

In summary, DKD remains the most frequent cause of ESRD worldwide. This implies that current diagnostic and therapeutic approaches are unsatisfactory. A number of currently ongoing RCTs may identify novel therapeutic approaches. However, the phenotype of the disease may have evolved in the context of current therapeutic approaches and lifestyle, and risk stratification markers may need to be re-defined.

Hipótesis / Hypothesis

Hipótesis / Hypothesis

DKD remains the most frequent cause of end-stage kidney disease worldwide. This implies that current diagnostic and therapeutic approaches are unsatisfactory. Moreover, the widespread availability of drugs to treat hypercholesterolemia and proteinuria, as well as the aging of the population may have changed the clinical presentation of the disease. We hypothesize that a better understanding of the current phenotype of DKD as well as the development of new markers for early diagnosis and risk stratification, may contribute to design and implement novel therapeutic approaches that improve the outcomes of DKD patients.

Objetivos / Objectives

Objetivos / Objectives

The overall objective is to improve our understanding of DKD in order to improve its outcome.

The specific objectives are:

1. To understand the phenotype of DKD in the 21st century, describing a Mediterranean country, tertiary care reference center cohort.
2. To characterize the prognosis of DKD in the 21st century.
3. To identify novel diagnostic and outcome markers.

Material y métodos

Material y métodos

1. Área de estudio: consulta monográfica de enfermedad renal crónica en la diabetes

Este trabajo de investigación se centró en la nefropatía diabética, cuya definición actual ha sido ampliada, permitiéndonos acuñar el término de enfermedad renal crónica (ERC) en la diabetes o Diabetic Kidney Disease (DKD). En esta tesis usaremos el término castellano enfermedad renal crónica en la diabetes (ERC en la diabetes).

La consulta monográfica de ERC en la diabetes fue iniciada en el año 2011 y ha establecido una cohorte de pacientes diabéticos con ERC, bien caracterizados desde el punto de vista de lesión renal y vascular, incluyendo la toma basal y anual de muestras biológicas (ADN, suero, plasma y orina) en régimen de biobanco. El seguimiento de esta cohorte continúa hasta el inicio de terapia renal sustitutiva o muerte, a fin de incrementar el conocimiento del espectro de la nefropatía diabética en nuestro país como referente de cohorte del Sur de Europa con un Sistema Nacional de Salud universal y gratuito.

2. Tipo de estudio y población de estudio

Se trata de un estudio observacional prospectivo con una población total de 261 pacientes diabéticos, tanto tipo 1 como tipo 2, remitidos a la consulta de ERC en la diabetes entre marzo de 2011 y septiembre de 2014.

Los procedimientos clínicos habituales y las determinaciones especiales fueron aprobados por el Comité Ético del Instituto de Investigación del Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz.

Se ofreció a todos los pacientes en consulta de nefropatía diabética su participación mediante consentimiento informado por escrito para el uso de datos clínicos, analíticos y pruebas de imagen, así como la extracción de muestra de sangre y/o orina para su almacenaje en régimen

de biobanco y posterior uso en distintas determinaciones de marcadores biológicos.

Se extrajeron muestras de suero, plasma y orina para biobanco con el fin de identificar marcadores pronósticos y estudiar las posibles interacciones entre estos marcadores con eventos cardiovasculares y renales, así como diferencias entre los distintos patrones de población con ERC y diabetes.

Inicialmente se realizó estudio descriptivo transversal de la población total de 261 pacientes. Estos pacientes fueron incluidos de forma consecutiva desde el 1/4/2011 hasta el 1/11/2014. Posteriormente el estudio de seguimiento se completó hasta entrada en un programa sustitutivo de función renal o fallecimiento o el día 30/10/2015. El seguimiento promedio fue de 30 ± 10 meses.

Los criterios de inclusión fueron:

1. Diabetes tipo 1 o tipo 2
2. Adulto (>18 años)
3. Cualquier grado de función renal (FGe) y de albuminuria, aunque la naturaleza de la consulta y de los datos clínicos obtenidos de la misma refleja en mayor medida pacientes con ERC (FGe <60 ml/min/1,73m² y/o incremento de la eliminación urinaria de albúmina, UAER >30 mg/24h o UACR >30 mg/g de creatinina urinaria). Hubo 6 pacientes que no cumplieron criterios de ERC. No obstante, se incluyen por haber tenido una analítica anterior con datos de albuminuria patológica o deterioro de la función renal que requirieron envío a consulta de ERC en la diabetes.
4. El diagnóstico de ERC en la diabetes (nefropatía diabética) fue en general clínico, aunque se realizó biopsia renal en los pacientes que no mostraron características típicas de ERC por diabetes. De estos pacientes, un total de 10 sujetos procedentes de la consulta se biopsiaron entre 2011 y 2016.

La biopsia renal reveló los siguientes diagnósticos:

4 casos de nefropatía diabética.

1 caso de nefropatía mesangial IgA

1 caso de nefropatía mesangial no IgA

1 caso de nefroangiosclerosis

1 caso de nefropatía membranosa

1 caso de glomerulonefritis rápidamente progresiva.

1 caso de necrosis tubular aguda.

Los criterios de exclusión fueron:

Menor de 18 años, paciente en diálisis o trasplante y negativa a firmar el consentimiento informado para entrar en el estudio.

Criterios de exclusión para extracción de muestra de biobanco fueron los siguientes:

1. Serología positiva para anticuerpos anti-Virus Hepatitis C (VHC) o anti-virus de la inmunodeficiencia humana positivo (VIH), antígeno de superficie de VHB positivo (HBsAg+)
2. Negativa del paciente a firmar el consentimiento informado o incapacidad para comprender el procedimiento.

Tamaño muestral. No se realizó un cálculo formal del tamaño muestral. El estudio continúa reclutando y en esta tesis presentamos los resultados a fecha 30/10/2015. Estudios previos de nuestro grupo sugieren que tamaños muestrales en torno a 200 pacientes con seguimiento en torno a 30 meses son suficientes para objetivar el valor pronóstico de biomarcadores en poblaciones similares.

3. Variables de estudio

En el estudio se recogieron variables de la historia clínica, FRCV clásicos y enfermedad cardiovascular.

3.1 Historia clínica

Los datos de la historia clínica corresponden a varias categorías

3.1.1 Historia y situación de diabetes mellitus

Los pacientes se clasificaron previamente como diabéticos en las consultas de endocrinología. Esta clasificación se realizó en base a los criterios diagnósticos de la American Diabetes Association. (60,132), según manifestaciones clásicas de DM y detección de glucosa plasmática >200 mg/dl, en cualquier momento del día, sin tener relación con el momento de la última ingesta. Las manifestaciones clásicas de DM incluyen poliuria, polidipsia, y pérdida no explicada de peso, glucemia en ayunas por encima de 126 mg/dl, con ayunas definido como ingesta no calórica durante al menos 8 horas previas, o durante test de tolerancia oral a la glucosa con glucemia a las 2 horas ≥ 200 mg/dl, con el test realizado según las recomendaciones de la OMS, usando una carga de glucosa equivalente a 75 g de glucosa disuelta en agua.

Se dividió a los pacientes en pacientes con DM tipo 1 y DM tipo 2 según las guías de la ADA.

- DM tipo 1 (DMT1). Forma de diabetes insulín-dependiente, resultante de la destrucción autoinmune de las células β pancreáticas o con insulinopenia permanente sin evidencia de autoinmunidad.
- DM tipo 2 (DMT2) Forma de diabetes del adulto que ocupa desde el predominio de la resistencia a la insulina con una relativa deficiencia insulínica a un defecto predominante secretor de la insulina con resistencia a la insulina. Se determinó asimismo el tiempo de evolución de la DM en años.

3.1.2 Edad, sexo.

3.1.3 Índice de masa corporal (IMC)

El IMC fue definido como peso (kg)/talla (m)². Esta fórmula clasifica el estado ponderal del paciente (<http://www.who.int/features/factfiles/obesity/facts/en/>) en:

- i. Bajo peso: $IMC < 18,5$ kg/m²
- ii. Normopeso: IMC 18,5-24,9 kg/m²
- iii. Sobrepeso: 25,0-29,9 kg/m²
- iv. Obesidad grado 1: IMC 30-34,9 kg/m²
- v. Obesidad grado 2: IMC 35-39,9 kg/m²

vi. Obesidad grado 3: $IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$

3.1.4 Circunferencia abdominal

La circunferencia abdominal se midió a la altura del ombligo.

3.2 FRCV clásicos

Entre los FRCV clásicos se recogieron, tabaquismo, HTA y dislipemia.

3.2.1 Tabaquismo

Se clasificaron los pacientes como fumadores activos (consumidor de tabaco de forma habitual o esporádica), ex-fumadores (más de un año sin consumir tabaco) o no fumadores (nunca habían consumido tabaco) según la definición de la Sociedad española de Neumología (www.separ.es).

3.2.2 HTA

Se consideraron hipertensos a los pacientes con diagnóstico previo de HTA, con tratamiento hipotensor o con cifras diagnósticas de HTA según las guías de la Sociedad Europea de Hipertensión (ESH) y las guías de la Sociedad Americana de Diabetes (ADA), es decir $\geq 140/90 \text{ mmHg}$ (60,121,186)

3.2.3 Dislipemia

Dentro de esta categoría se subdividió a los pacientes según:

Hipercolesterolemia. categorizado como LDL colesterol $>100 \text{ mg/dl}$ y/o colesterol total $>175 \text{ mg/dl}$ y/o en tratamiento con estatinas.

Hipertrigliceridemia en ausencia de hipercolesterolemia (fenotipo IV). Si triglicéridos $> 200 \text{ mg/dl}$ (187).

Dislipemia mixta: LDL colesterol $>100 \text{ mg/dl}$, triglicéridos $>200 \text{ mg/dl}$ y/o toma de otros fármacos hipolipemiantes asociados a estatina.

3.3 Enfermedad cardiovascular (ECV)

Se definieron las siguientes categorías de ECV:

3.3.1 Insuficiencia cardíaca congestiva (ICC)

Síndrome resultante de trastorno estructural o funcional del corazón, que causa una dificultad

para mantener volúmenes de llenado cardiaco adecuados para solventar el metabolismo tisular o bien, se produce incremento de presión de llenado intraventricular. Se clasificó en categorías NYHA de gravedad (New York Heart Association) (188).

3.3.2 Síndrome coronario agudo (SCA)

Se incluyeron tanto infarto de miocardio (IAM) con elevación del segmento ST, IAM sin elevación del segmento ST y angina inestable según los criterios de la OMS (189).

3.3.3 Arritmia cardiaca

Según definición por electrocardiograma (ECG) englobando tanto la fibrilación auricular crónica o paroxística (FA) y flutter auricular (FLA).

3.3.4 Enfermedad vascular periférica (EVP)

Claudicación intermitente clásicamente definido por Leriche-Fontaine (Pousti TH et al. Clinical examination of the vascular system. Vascular surgery. Principles and practice. McGraw Hill. 1994;77). Se recogieron los datos de EVP según sintomatología clínica y valoración por cirugía vascular.

3.3.5 Accidente cerebro-vascular (ACVA)

Definido por interrupción abrupta del flujo sanguíneo cerebral o sangrado, se englobó tanto el accidente isquémico transitorio (AIT), como el ACVA hemorrágico e isquémico según datos de afectación por tomografía axial computerizada (TAC) craneal.

4. Pruebas complementarias

Se recogió analítica en todos los pacientes según estándar de práctica clínica habitual. Como valores de la normalidad de las variables bioquímicas y hematológicas se tomaron las indicadas por el laboratorio de la FJD.

4.1 Parámetros hematológicos relacionados con la anemia

Hemograma: hematocrito (%); hemoglobina (Hb, g/dL); volumen corpuscular medio (VCM, fL); cinética de hierro: sideremia (µg/dl), ferritina (ng/ml) y saturación de transferrina (TSAT, %).

4.2 Parámetros leucocitarios y subpoblaciones leucocitarias circulantes.

Número de leucocitos circulantes y de cada una de las subpoblaciones leucocitarias: Neutrófilos, eosinófilos, basófilos y linfocitos.

4.3 Parámetros relacionados con el control glucémico

Glucemia (mg/dl) y hemoglobina glicosilada HbA1C (%).

4.4 Parámetros de metabolismo mineral y óseo

Calcio (mg/dl), calcio corregido para albúmina ($\text{calcio corregido (mg/dl)} = \text{calcio medido (mg/dl)} - \text{albúmina (g/dl)} + 4.0$), fósforo (mg/dl), magnesio (mg/dl), PTH intacta (pg/ml, medida por un ensayo inmunoradiométrico, IRMA, de segunda generación: CA-PTH duo; Scantibodies Laboratory Inc), y niveles de $1,25 (\text{OH})_2$ vitamina D (pg/ml) y 25 OH vitamina D (ng/ml), ambas determinadas por un radioinmunoensayo de DiaSorin.

También se analizó calcio, fósforo y magnesio (mg/dl) urinarios. Con estos parámetros se calculó:

eliminación urinaria de calcio, fósforo y magnesio en 24 horas.

excreción fraccional de fosfatos (EFP)(%) [$(\text{fósforo urinario/fósforo plasmático})/(\text{creatinina urinaria/creatinina plasmática}) \times 100$].

4.5 Perfil lipídico

Se estudiaron colesterol total (mg/dl), LDL colesterol (mg/dl), HDL colesterol (mg/dl) y triglicéridos (mg/dl).

4.6 Niveles de ácido úrico

Se definió hiperuricemia como ácido úrico >7 mg/dl en hombres y >6 mg/dl en mujeres.

4.7 Parámetros de inflamación y nutrición

Albúmina sérica (g/dl), PCR de alta sensibilidad (PCRhs) (mg/l) y prealbúmina en mg/dl.

4.8 Medidas de hormonas vasoactivas

La determinación de renina se realizó de dos formas distintas:

- ☐ Desde el 1/1/2011 a 19/1/2012 con equipo Liason, medida de renina inmunoreactiva

por quimioluminiscencia (CLIA). Valores de referencia: 4.4- 46.1 mUI/mL para posición ortostática.

- ☐ Desde el 20/1/2012 a 31/12/2014 se ha realizado Actividad de Renina Plasmática por técnica RIA. Valores de referencia: 1.3 - 4 en ng/mL/h para posición ortostática. Dado el cambio de técnica, no fue posible analizar estos datos.

La aldosterona se ha medido en ortostatismo. Valores de referencia: 40-300 pg/ml.

Estas medidas se realizaron en las primeras horas de la mañana (8:00-10:00 h).

4.9 Iones

En el mismo día del estudio de hormonas vasoactivas se midió el sodio (Na, mEq/l) y potasio plasmático (K, mEq/l) en plasma y orina. Con estos parámetros se calcularon:

- ☐ eliminación urinaria de sodio y potasio en orina de 24 horas.
- ☐ excreción fraccional de sodio (EFNa, %): $[(\text{sodio urinario/sodio plasmático})/(\text{creatinina urinaria/creatinina plasmática}) \times 100]$.
- ☐ Medida de CO₂ plasmático por medio de autoanalizador.

4.10 Medidas de función y lesión renal

Se midió la creatinina plasmática (Crp, mg/dl), que se ha usado para estimar el filtrado glomerular (FGe), mediante las ecuaciones CKD-EPI y MDRD. También se midió el aclaramiento de creatinina, así como proteinuria y albuminuria en orina de 24 horas, y el en orina simple y cociente proteinuria/creatinina en orina (UPCR) y albuminuria/creatinina en orina (UACR).

Estas medidas realizaron basalmente, a los 6 meses y al final del estudio con el fin de evaluar la pendiente de pérdida de FGe.

- ☐ El aclaramiento de creatinina (Ccr) se midió a partir de Crp y de la creatinina en orina de 24 horas.
- ☐ El FGe se estimó mediante la ecuación MDRD4 (190):

$$FG = 175 \times (\text{creatinina sérica})^{-1,154} \times \text{edad}^{-0,203} \times (0,742 \text{ en mujeres})$$

y por las ecuaciones CKD-EPI para raza blanca: (191)

mujeres con Crp <0,7 mg/dl: $FGe = 144 \times (cr/0,7)^{-0,329} \times (0,993)^{edad}$

Mujeres con Crp >0,7 mg/dl: $FGe = 144 \times (cr/0,7)^{-1,209} \times (0,993)^{edad}$

Hombres con Crp <0,9 mg/dl: $FGe = 141 \times (cr/0,9)^{-0,411} \times (0,993)^{edad}$

Hombres con Crp >0,9 mg/dl $FGe = 141 \times (cr/0,9)^{-1,209} \times (0,993)^{edad}$

4.11 Medidas de hormonas y vitaminas

Se determinaron asimismo hormonas tiroideas (TSH, T3, T4 libres) y vitaminas A, E, B12 y ácido fólico.

5. Nuevos biomarcadores

Abordamos el estudio de potenciales nuevos biomarcadores urinarios (CKD273) y plasmáticos (PCSK9, CXCL16, GDF11 y anti-β2 GPI IgA).

5.1 Nuevos biomarcadores

Dentro del ensayo clínico PRIORITY (<http://www.eu-priority.org/>) se recogieron muestras de orina de 14 pacientes diabéticos tipo 2 con nefropatía establecida y de 9 pacientes diabéticos tipo 2 sin nefropatía (control) para evaluar el biomarcador CKD273, un panel de 273 péptidos urinarios que identifica pacientes con ERC (93).

Se recogió la segunda orina de la mañana, almacenándolo en tubos Urine-Monovette® (SARSTEDT AG & Co, Nümbrecht, Germany) a -20°C. Las muestras de orina (0,7 mL) se diluyeron con 0,7 mL 2 M urea, 10 mM NH₄OH y 0,02 % dodecil sulfato sódico (SDS). Para retirar los polipéptidos de alto peso molecular, las muestras se filtraron utilizando filtros de ultracentrifugación Centristart (cut-off de 20kDa de peso molecular; Sartorius; Goettingen, Alemania) a 3000 g hasta que se obtuvo 1,1 mL de filtrado. El filtrado fue desalado con columna de PD-10 (GE Healthcare, Sweden), equilibrado en 0.01% NH₄OH en agua gradada HPLC. La muestra preparada se liofilizó y se almacenó a 4°C y se resuspendieron en agua graduada HPLC (Merc KGaA, Darmstadt, Germany) para analizarla por espectrofotometría de masas (CE-MS). El análisis CE/MS y el procesamiento de datos se realizó como se ha descrito (192,193)

utilizando un sistema de electroforesis capilar P/ACE MDQ (Beckman Coulter, Fullerton, USA) unido on-line a un micro-TOF MS (Bruker Daltonic, Bremen, Alemania).

Los picos iónicos de masa espectral, representando moléculas idénticas con carga diferente se desplegaron en masas simples usando el software MosaiquesVisu (194). Para conseguir una mayor exactitud se calibraron las señales desplegadas TOF basándose en la exactitud derivada de masas (desviación de masa de 1 ppm) (192). En paralelo se normalizaron el tiempo de retención CE por regresión local y la intensidad de la señal utilizando estándares internos. Todos los péptidos detectados se depositaron, pareados y anotados en una base de datos Microsoft SQL.

5.2 Biomarcadores PCSK9, CXCL16, GDF11 y anti-β2 GPI IgA.

Como análisis complementario se midieron diferentes potenciales biomarcadores como PCSK9, CXCL16, GDF11 y anti-β2 GPI IgA en plasma. Las muestras fueron recolectadas en el laboratorio de análisis clínicos tras al menos 12 horas de ayuno, centrifugadas a 2500 rpm durante 15 minutos y el plasma congelado a -80°C hasta su uso. Los ELISA se realizaron siguiendo las instrucciones del fabricante.

PCSK9 (ng/ml) plasmático se determinó en 134 pacientes mediante ELISA (R&D Systems, Minneapolis, USA).

CXCL16 (ng/ml) plasmático se determinó en 134 pacientes mediante ELISA (R&D Systems, Minneapolis, USA).

GDF11 (pg/mL) plasmático se determinó en 29 pacientes mediante ELISA (R&D Systems, Minneapolis, USA).

Los anticuerpos anti-β2 GPI IgA (SAU) se determinaron en 137 pacientes mediante ELISA (INOVA Diagnostics Inc., San Diego, CA). Se consideró positivo a partir de 20 unidades SAU. Un resultado positivo indica la presencia de anticuerpos anti β2 GPI IgA y sugiere la posibilidad de lupus eritematoso sistémico (LES).

6. Pruebas cardiológicas

Las pruebas cardiológicas realizadas fueron un electrocardiograma y un ecocardiograma

transtorácico.

El ecocardiograma transtorácico se realizó en el servicio de cardiología con un equipo de última generación 2D IE Phillips y una sonda ultrasónica S 5-1. La hipertrofia de ventrículo izquierdo (HVI) se estudió en modo 2D, adquiriendo las imágenes en modalidad de 4 cámaras y midiendo el septo interventricular. Además, se midieron los siguientes parámetros:

- ☐ Diámetro diastólico de ventrículo izquierdo (DDVI).
- ☐ Fracción de eyección de ventrículo izquierdo (FEVI).
- ☐ Patrón de alteración de la relajación.
- ☐ Presencia de calcificaciones valvulares.

Para catalogar la severidad de HVI se siguieron las guías de American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group (81):

- a) mujeres: rango de referencia: 0,6-0,9 cm; HVI leve: 1,0-1,2 cm; HVI moderada: 1,3-1,5 cm; HVI grave: $\geq 1,6$ cm.
- b) hombres: rango de referencia: 0,6-1,0 cm; HVI leve: 1,1-1,3 cm; HVI moderada: 1,4-1,6 cm; HVI grave: $\geq 1,7$ cm.

7. Seguimiento clínico y objetivos terapéuticos.

Los pacientes fueron seguidos en una consulta clínica rutinaria, siguiendo las guías de tratamiento de la ADA, KDIGO, y de sociedad española de nefrología en su consenso para el tratamiento de los pacientes con nefropatía diabética, así como guías de práctica clínica sobre manejo de lípidos en enfermedad renal e hipertensión arterial (61,60,195,133). Específicamente se usaron las siguientes dianas terapéuticas:

7.1 Tratamiento nefroprotector

Consintió en la prescripción de inhibidores del sistema renina angiotensina aldosterona (ISRAA). No se usó la pentoxifilina de forma rutinaria.

Todos los pacientes, excepto contraindicación fueron tratados con ISRAA según recomendación de guías de práctica clínica. Inicialmente esto implicó IECA, ARA2 o la combinación de ambos. La combinación de IECAs y ARA2 se interrumpió cuando apareció la contraindicación por parte de la agencia europea del medicamento (EMA) (143). Se registraron los pacientes que se encontraban bajo doble bloqueo del RAS y se siguieron tras su retirada, aunque esta subpoblación no se ha analizado en esta tesis. En general se mantuvo el ARA2 preferentemente en DMT2 y el IECA en DMT1.

La dosis de IECA/ARA2 se ajustó con <30 mg/g objetivo de UACR y <130/70 mmHg objetivo de TAS y TAD.

7.2 Otros tratamientos hipotensores

Se añadieron otros hipotensores a fin de obtener cifras de TAS y TAD <130/70 mmHg. La secuencia inicial en pacientes sin hiperuricemia o mal control glicémico fue con dosis bajas de HCTZ (12,5 mg al día), aumentando progresivamente la medicación con antagonistas del calcio, mayor dosis de diuréticos tiazídicos y alfabloqueantes si el control no era adecuado. Se reservaron inicialmente los betabloqueantes para pacientes con enfermedad cardiovascular.

7.3 Tratamientos hipolipemiantes

Se prescribieron estatinas como prevención primaria en todos los pacientes, salvo contraindicación o efecto adverso previo descrito (elevación de la CPK o aparición de mialgias reportadas en la historia clínica). La diana de LDL colesterol en prevención primaria fue de 100 mg/dl, en prevención secundaria de 70 mg/dl.

Se prescribieron fibratos en aquellos pacientes cuyos niveles de triglicéridos excedieron de 200 mg/dl, midiendo la CPK en la siguiente consulta.

Se reservaron los ácidos grasos omega 3 para aquellos pacientes en los que las medidas previas de CPK habían sido elevadas (>155 UI/l en mujeres o >175 UI/l en varones) o se había reportado en historia clínica mialgias en relación con fibratos.

7.4 Tratamientos antiagregantes plaquetarios o anticoagulantes

Los antiagregantes y anticoagulantes orales se prescribieron para indicaciones específicas, ante

el desarrollo de enfermedad cardiovascular o aparición de arritmias o estados procoagulantes. No se prescribieron antiagregantes plaquetarios como prevención primaria.

7.5 Tratamientos para anemia

Se indicó tratamiento con eritropoyetina o derivado para alcanzar una Hb objetivo de 11-12 g/dL, una vez conseguidos TSAT >20% y ferritina >100 ng/mL tras suplementar hierro oral si fuera necesario.

7.6 Tratamientos modificadores del metabolismo mineral

Se indicaron vitamina D nutricional (calcifediol), calcitriol o paricalcitol con los siguientes criterios y objetivos:

Calcifediol: pacientes con niveles de 25 OH vitamina D <20 ng/ml.

Paricalcitol: pacientes menores de 75 años con niveles de PTH >100 ng/ml, una vez normalizados los niveles de 25 OH vitamina D, calcio y fósforo.

Calcitriol: se indicó en aquellos pacientes mayores de 75 años con niveles de PTH >100 ng/ml, una vez normalizados los niveles de 25 OH vitamina D, calcio y fósforo.

Se indicaron quelantes de fósforo con los siguientes criterios y objetivos:

Pacientes con fósforo en sangre >5,1 mg/dl una vez excluida la intoxicación por tratamientos con vitamina D y tras recomendaciones dietéticas.

Se indicó bicarbonato sódico oral con los siguientes criterios y objetivos:

Pacientes con CO₂ total < 20 mEq/l, iniciando con dosis bajas de 500 mg al día.

Se indicó suplementos de magnesio con los siguientes criterios y objetivos:

Magnesio <1,3 mg/dl.

7.7 Tratamientos antidiabéticos

La HbA1C diana fue de 7%, excepto en los pacientes muy ancianos (>80 años) en los que se admitieron valores de HbA1C de 8%.

Los pacientes fueron tratados desde las consultas de endocrinología y nutrición con ADO según criterios de la ADA (132). De inicio los pacientes con FGe>40 ml/min/1,73 m² fueron tratados

con metformina como fármaco de primera elección. Otros ADO utilizados fueron sulfonilureas, IDPP4, GLP1 y glinidas.

En los pacientes con FGe <40 ml/min/1,73 m² se utilizaron glinidas (repaglinida) y los IDPP4 ajustados a función renal o linagliptina (5 mg/d).

Los pacientes fueron incluidos entre 2011 y 2014, por lo que no se encontraba disponible el tratamiento con iSGLT2.

Los pacientes fueron insulinizados según protocolo del servicio de endocrinología y nutrición conforme la práctica clínica diaria y las recomendaciones de la ADA (132).

7.8 Dieta

Se indicó dieta pobre en sal en los pacientes con diagnóstico de HTA. En general se indicó dieta para diabéticos sin restricción específica de proteínas, fosfato o potasio excepto en aquellos pacientes que tuvieron valores de fósforo o potasio por encima de la normalidad.

Los pacientes en tratamiento con IECA o ARA2 con valores de potasio en el límite alto de la normalidad (Kp >5 mmol/L) recibieron recomendaciones dietéticas sobre la ingesta de frutas con alto contenido en potasio y su interacción con la medicación bloqueante del SRA.

8. Variables de resultados en el seguimiento prospectivo

Se definieron las siguientes variables de resultados

8.12 Pendiente de pérdida de FGe

Se calculó como cambio anual de FGe en ml/min/1.73 m²/año mediante la siguiente fórmula:

$((\text{FGe final} - \text{FGe inicial}) / \text{FGe inicial}) / \text{tiempo de seguimiento en años}$

8.13 Variación de UACR y de UPCR

Se calculó como porcentaje de cambio anual de UACR o UPCR mediante la siguiente fórmula:

$((\text{UACR final} - \text{UACR inicial}) / \text{UACR inicial}) * 100 / \text{tiempo de seguimiento en años}$

8.14 Necesidad de tratamiento sustitutivo de la función renal

Se definió como la entrada en un programa de diálisis o trasplante con permanencia >90 días o

fallecimiento durante los primeros 90 días sin dejar la diálisis.

8.15 Mortalidad

Se definió como fallecimiento antes de comenzar el tratamiento sustitutivo de la función renal.

8.16 Evento combinado

Se definió como la ocurrencia de tratamiento sustitutivo de la función renal o de fallecimiento antes de requerir tratamiento sustitutivo de la función renal. Se comprobó la situación final de los perdidos en el seguimiento mediante la historia clínica electrónica del Hospital Fundación Jiménez Díaz. Los pacientes que continuaron residiendo en la Comunidad Autónoma de Madrid se revisaron mediante la historia clínica electrónica en HORUS.

8.17 Nuevo evento cardiovascular

Se definió como ocurrencia de un evento cardiovascular, definidos en el apartado correspondiente, después de inclusión en la cohorte, y que motivó ingreso.

9. Análisis estadístico

Las variables continuas se describen como media \pm desviación estándar (DS) para distribuciones normales o como mediana \pm rango intercuartílico (RIC) para distribuciones no normales, incluyendo intervalo de confianza (IC) cuando es apropiado. Las medias se compararon por tests paramétricos (test t de Student para 2 grupos y ANOVA 3 o más grupos) o no paramétricos (Mann-Whitney o Kruskal-Wallis, respectivamente).

Se empleó el coeficiente de correlación de Pearson o Spearman para valoración de correlación entre variables continuas. La valoración de asociación entre variables discretas se realizó utilizando el test de la χ^2 o el exacto de Fisher en los casos de celdas con frecuencia muy baja (5 o menos individuos). Para cuantificar la asociación se usaron modelos de regresión lineal multivariable o de regresión logística, en función de si la variable dependiente era continua o discreta binaria.

Evaluamos la evolución del FGe mediante las ecuaciones MDRD4 y CKD-EPI (ml/min/1,73m²), así como de UACR y UPCR (mg/g de Creatinina). Para el FGe se utilizó la media aritmética, y

para UACR y UPCR, la mediana y el rango intercuartílico. Las comparaciones se han realizado con la prueba de ANOVA para medidas repetidas, y en el caso de UACR y UPCR se han utilizado los datos se transformados con logaritmos.

Para el estudio de las variables asociadas a la pérdida de función renal estimamos las pendientes de descenso de FGe por la fórmula CKD-EPI, y tomamos como variable dependiente o respuesta la pendiente de FGe y como variable independiente o factor pronóstico cada una de las variables recogidas en la visita basal.

Se evaluaron las asociaciones de las distintas variables de estudio con muerte, entrada en diálisis y evento combinado (muerte o entrada en técnica de diálisis). Teniendo en cuenta que la Odds Ratio (OR) es una mirada a una relación en un momento temporal estático, se decidió determinar la Hazard Ratio (HR) para aproximar la relación dinámica. El estudio de la supervivencia se realizó con modelos de regresión de Cox, puesto que la medida del riesgo en estos modelos tiene en cuenta el tiempo total hasta el evento, por lo que sería el más correcto para estudio de la mortalidad, entrada en técnicas de tratamiento renal sustitutivo o ambos (evento combinado).

También se estudió la relación de las distintas variables basales con la pérdida de FGe, dividiendo a la población en rápidos progresadores (pérdida de FGe >5 ml/min/1,73 m²/año o progresión estándar (progresión ≤ 5 ml/min/1,73m²/año). Se determinaron las OR con modelos de regresión logística. Si la OR es superior a 1 quiere decir que cuanto mayor sea la variable, mayor riesgo de estar por progresión rápida.

Para evaluar las variables asociadas a la evolución de la albuminuria (UACR), se dividió la muestra en terciles, comparando el tercil superior (mayor incremento de UACR durante el seguimiento) con el tercil inferior (mejoría o descenso de UACR). Codificando estas variables obtuvimos una variable primaria y utilizamos modelos de regresión logística para determinar OR, que indican si el incremento de una determinada variable se asocia con un mayor o menor riesgo de presentar incrementos de la UACR superiores al punto de corte de los terciles superior e inferior. Si la OR es superior a 1 quiere decir que cuanto mayor sea la variable, mayor riesgo de estar por encima del tercil superior (mayor empeoramiento de UACR). Si la OR es inferior a 1 indicará lo contrario.

En los modelos de regresión logística se presentó la OR como medida de riesgo y se realizó análisis multivariable tomando las variables significativas ($p < 0,05$) o con $p < 0,1$ según los análisis univariados ajustados por edad, FGe por CKD-EPI inicial y UACR inicial. En estos casos se realizó curva ROC para representar gráficamente el modelo óptimo.

Los modelos multivariados se construyeron por pasos hacia adelante, tomando como candidatas a aquellas variables que en el análisis univariable presentaron una p inferior a 0,1. La inclusión o exclusión de las variables en el modelo en cada paso, se ha basado en la prueba de razón de verosimilitudes.

Todos los estudios se realizaron para el total de la población y para hombres y mujeres por separado.

Un total de 18 (7%) pacientes se perdieron en el seguimiento: 9 (5%) varones y 9 (9%) mujeres.

Se quitaron “outliers” en función del FGe final en aquellos pacientes que aumentaron o disminuyeron su FGe en más de 30 ml/min/1,73m², presuponiendo en estos casos un posible factor de confusión (FRA previo a su inclusión o durante el seguimiento).

Resultados

Resultados

1. Espectro clínico de la enfermedad renal crónica en la diabetes

El estudio se realizó sobre 261 pacientes remitidos a la consulta de ERC en la diabetes entre marzo de 2011 y septiembre de 2014.

La tabla 1 muestra las características demográficas de la población. La edad media fue de 68 años, el 95% tenían DMT2 y el 93% eran de raza caucásica, sin que se observaran diferencias entre hombres y mujeres.

Tabla 1. Características demográficas generales.

Variable		Total n=261	Hombres n=170	Mujeres n=91	p
Edad (media \pm DS)		68 \pm 13	68 \pm 12	70 \pm 13	0,13
Hombres, n (%)		170 (65)	n.a.	n.a.	
Tipo de DM, n (%)	Tipo 1	14 (5,4)	9 (5,3)	5 (5,5)	0,94
	Tipo 2	247 (94,6)	161 (94,7)	86 (94,5)	
Raza, n (%)	Caucásica	243 (93,1)	156 (91,7)	87 (95,0)	0,84
	Negra	9 (3,4)	6 (3,5)	3 (3,3)	
	Asiática	9 (3,4)	8 (4,5)	1 (1,1)	

n.a.: no aplica

La tabla 2 resume los parámetros de función y lesión renal. La mediana de FGe estimado por CKD-EPI fue 55 ml/min/1,73 m². El CrCl fue mayor en varones, aunque solo se objetivó una tendencia a hacia mayor FGe CKD-EPI. Si bien no se objetivaron diferencias significativas

en el FGe estimado por CKD-EPI o MDRD-4, a no ser se especifique lo contrario, usaremos el FGe CKD-EPI a lo largo de la tesis por ser más fiable cuando el FGe es >60 ml/min/1,73 m². Los varones tuvieron también casi el doble de UACR que las mujeres (187 vs 99 mg/g, $p=0,013$) y casi tres veces más albuminuria en 24 h (247 vs 87 mg/24h, $p<0,00$).

Tabla 2. Parámetros basales de función y lesión renal (media± DS o mediana [rango intercuartílico])

Variable	n	Total	Hombres	Mujeres	P
Marcadores de filtrado glomerular					
Creatinina sérica (mg/dl)	261	1,50±0,80	1,58±0,83	1,36±0,71	0,003
FGe MDRD4 (ml/min/1,73 m ²)	261	53,7±24,6	55,9±25,3	49,6±22,7	0,048
FGe CKD-EPI (ml/min/1,73 m ²)	261	54,8±25,8	56,3±25,7	52,0±25,8	0,20
CrCl (ml/min)	249	62,5±34,3	66,88±36,30	53,65±28,95	0,007
Creatinina en orina (mg/24h)	249	1120±398	1253±395	858±245	<0,0001
Creatinina en orina (mg/dl)	260	64,5±25,7	70,9±25,8	52,4±21,0	<0,0001
Proteinuria y albuminuria					
Proteinuria (mg/dl)	252	19,2 [7,9-55,5]	24,3 [9-66]	13,5 [6,3-36]	0,002
Proteinuria (mg/24 h)	244	363 [148-875]	464 [162-1125]	241 [111-560]	0,002
UPCR (mg/g)	252	322 [133-888]	348 [132-1081]	297 [132-657]	0,35
Albuminuria (mg/dl)	260	97,5 [20-309]	136,5 [32,75-396,6]	48,5 [8,8-186,2]	0,0002
Albuminuria (mg/24 h)	247	182 [41-515]	247 [60-645]	87 [12-275,1]	0,0002
UACR (mg/g)	260	156 [37-499]	187 [50-592]	99,5 [15-403]	0,013
Proteinuria y albuminuria según creatinuria total en 24h					
UPCR24h (mg/g)*	244	366 [148-917]	456 [165-1125]	241 [111-560]	0,0016
UACR24h (mg/g)*	249	182 [40-520]	247 [62-647]	87 [12-275]	0,0002

UPCR: relación proteína/creatinina urinaria; UACR: relación albúmina/creatinina urinaria

* Normalizada para la creatinina excretada realmente en 24 h, multiplicando la UACR o la UPCR (en mg/g) por la creatinuria de 24h (en g).

La rutina clínica equipara proteinuria o albuminuria en 24h con UPCR o UACR, asumiendo que hombres y mujeres excretan 1 g de creatinina en orina. De hecho, los puntos de corte para las categorías de albuminuria en la clasificación KDIGO son iguales sean expresados en mg/g o en mg/24h (61). Como se observa en la tabla 2, la excreción urinaria de creatinina en 24 h es mayor en hombres que en mujeres (1,2 vs 0,85 g/24h). Por ello hemos normalizado la UPCR y la UACR para la creatinina excretada en 24 h por hombres y por mujeres. Los resultados se visualizan mejor en la figura 1. Observamos como la normalización asumiendo una excreción urinaria de creatinina de 1 g/día (la asunción habitual en la práctica clínica) atenúa las diferencias en proteinuria y albuminuria entre hombres y mujeres. Esta observación puede ser importante para interpretar las diferencias entre sexos para el riesgo de progresión de la enfermedad renal.

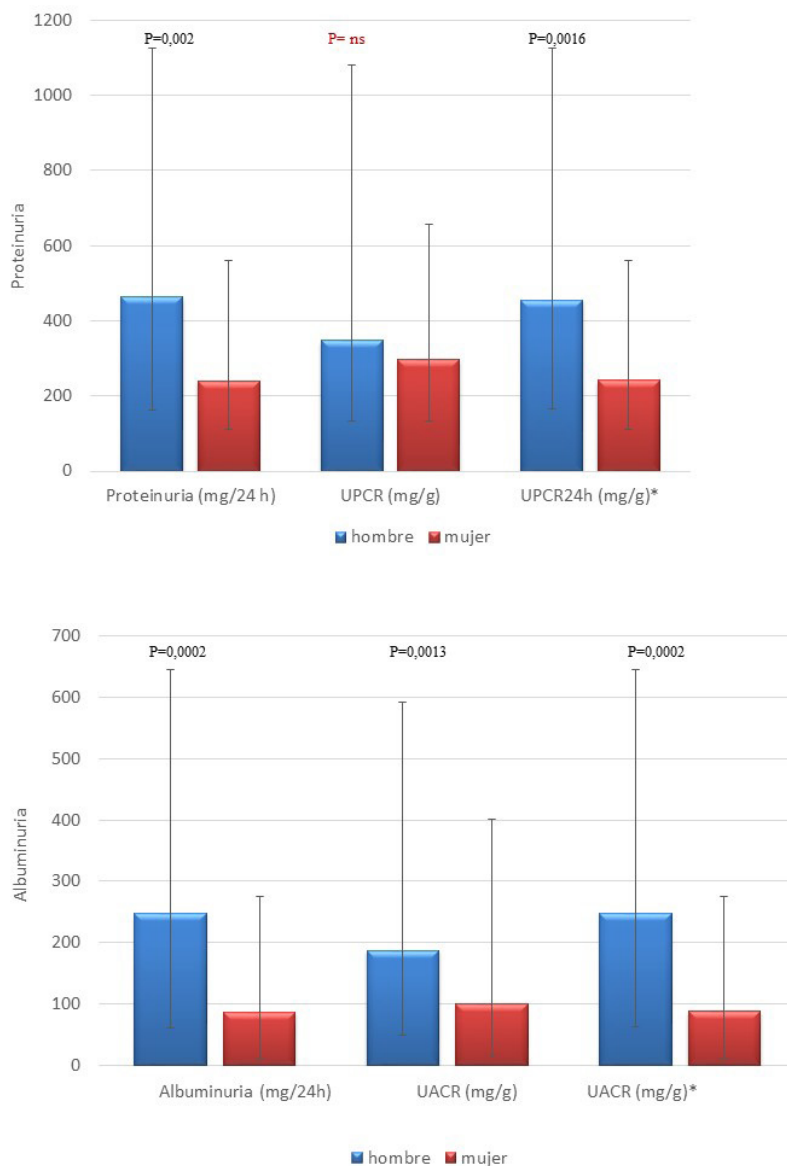


Figura 1. Impacto de la forma de expresar la proteinuria y albuminuria sobre el resultado de la cuantificación. A) Proteinuria. B) Albuminuria. * expresado por gramos de creatinina eliminados realmente en 24h. Datos expresados como mediana [Rango intercuartílico]

Las tablas 3 a 5 recogen la distribución en categorías KDIGO de ERC en la primera visita. Estrictamente hablando 16 (6%) pacientes no cumplían criterios de ERC en ese momento, pero fueron incluidos ya que contribuían a aumentar la diversidad de la población estudiada. Estos pacientes que no cumplieron criterios de ERC (G1A1) fueron remitidos por aparición de albuminuria patológica (>30 mg/g) en alguna consulta previa de endocrinología, resuelta

antes de acudir a consulta de ERC en la diabetes. Las características previas a la inclusión en el estudio de estos 6 pacientes anteriores se muestran en la **tabla 5.b**:

La categoría G más representadas fue G3 y la categoría A, la A2. De hecho, el 42% de los pacientes correspondían a la categoría G3 y 41% a la categoría A2 (**Tabla 3**), repartidos de forma homogénea entre G2A2, G3A1, G3A2 y G3A3. La distribución fue parecida cuando se estudiaron hombres y mujeres por separado, aunque había más varones en la categoría A3. (**Tablas 4 y 5**). En general los pacientes son enviados a consulta tarde, el 62% habían perdido ya más del 40% del filtrado glomerular en la primera visita, si estimamos 100 ml/min/1,73m² como filtrado glomerular normal.

Tabla 3. Categorías de enfermedad renal crónica según guías KDIGO 2012. Población total. Porcentajes sobre el total de la población. No hay datos de albuminuria de una mujer G3b con incontinencia urinaria.

	A1	A2	A3	Total
G1	6 (2%)	18 (7%)	12 (5%)	36 (14%)
G2	10 (4%)	38 (15%)	12 (5%)	60 (23%)
G3	32 (12%)	42 (16%)	37 (14%)	111 (43%)
G4	13 (5%)	8 (3%)	23 (8%)	44 (17%)
G5	0 (0%)	2 (1%)	7 (3%)	9 (3%)
Total	61 (23%)	108 (42%)	91 (35%)	260 (100%)

Tabla 4. Categorías de enfermedad renal crónica según guías KDIGO 2012. Hombres. Los porcentajes son sobre el total de los hombres.

	A1	A2	A3	Total
G1	3 (2%)	12 (7%)	11 (6%)	26 (15%)
G2	6 (4%)	26 (15%)	8 (5%)	40 (24%)
G3	19 (11%)	27 (16%)	25 (15%)	71 (42%)
G4	5 (3%)	6 (3%)	18 (11%)	29 (17%)
G5	0 (0%)	0 (0%)	4 (2%)	4 (2%)
Total	33 (20%)	71 (41%)	66 (39%)	170 (100%)

Tabla 5. Categorías de enfermedad renal crónica según guías KDIGO 2012. Mujeres. Los porcentajes son sobre el total de las mujeres. No hay datos de albuminuria de una mujer G3b con incontinencia urinaria.

	A1	A2	A3	Total
G1	3 (3%)	6 (7%)	1 (1%)	10 (11%)
G2	4 (4%)	12 (13%)	4 (4%)	20 (22%)
G3	13 (14%)	15 (17%)	12 (13%)	40 (44%)
G4	8 (8%)	2 (2%)	5 (6%)	15 (17%)
G5	0 (0%)	2 (2%)	3 (3%)	5 (6%)
Total	28 (31%)	37 (41%)	25 (28%)	90 (100%)

Tabla 5b. Pacientes con categorías G1A1 en la primera visita. Análisis previos a la primera visita en la consulta de ERC en la diabetes.

Edad (años)	Sexo	sCr (mg/dl)	FGe CKD-EPI (ml min/1.73 m ²)	UACR (mg/g)
42	V	0,8	110	39
66	V	0,6	105	23
34	F	0,8	111	ND
54	F	0,7	98	59
38	F	0,6	119	395
39	V	0,7	110	19

La **tabla 6** muestra las complicaciones de la DM y los factores de riesgo cardiovascular. El 50% de los pacientes tenían retinopatía, el 13% polineuropatía, el 49% enfermedad cardiovascular, cuyas formas más frecuentes fueron síndrome coronario agudo (23%) y enfermedad vascular periférica (EVP) (24%). Los factores de riesgo cardiovascular más frecuentes fueron la HTA y la dislipemia (89%) que se añaden a la DM y la ERC. En general existieron pocas diferencias entre hombres y mujeres, aunque la EVP fue más frecuente en los hombres que en mujeres (28 vs 15%, $p=0,03$) y las arritmias tendieron a ser menos frecuentes en hombres (12 vs 20%, $p=0,11$). Los hombres fueron con más frecuencia fumadores o ex-fumadores (73 vs 22%, $p<0,001$) y tuvieron una tendencia hacia TAD más alta.

Tabla 6: Complicaciones de la DM y factores de riesgo cardiovascular (FRCV). Insuficiencia cardiaca (ICC); síndrome coronario agudo (SCA); Accidente cerebro-vascular (ACV); Enfermedad vascular periférica (EVP); Fracción de Eyección de Ventrículo Izquierdo (FEVI); Diámetro Diastólico (DD). Datos expresados como n (%), media \pm DS o mediana [rango intercuartílico].

Complicaciones de la DM		Total (n=261)	Hombres (n=170)	Mujeres (n=91)	P
Retinopatía diabética		127/261 (49,7)	81/170 (47,6)	46/91 (50,5)	0,19
Leve/moderada o no proliferativa		72/261 (27,6)	50/170 (29,4)	22/91 (24,2)	
Severa o proliferativa		33/261 (12,6)	16/170 (9,4)	17/91 (18,7)	
Edema macular		22/261 (8,4)	15/170 (8,9)	7/91 (7,7)	
Polineuropatía diabética		34/261 (13,0)	22/170 (12,9)	12/91 (13,2)	1
Enfermedad cardiovascular		128/261 (49,0)	83/170 (48,8)	45/91 (49,5)	1
ICC		42/261 (16,1)	31/170 (18,2)	11/91 (12,0)	0,26
SCA		61/261 (23,4)	42/170 (24,7)	19/91 (20,9)	0,58
ACV		16/261 (6,1)	8/170 (4,7)	8/91 (8,8)	0,29
EVP		62/261 (23,8)	48/170 (28,2)	14/91 (15,4)	0,03
Arritmias		38/261 (14,6)	20/170 (11,8)	18/91 (19,8)	0,11
FRCV					
Tabaco	No fumador	108/261 (41,4)	37/170 (21,9)	71/91 (78,0)	<0.001
	Fumador	49/261 (18,8)	39/170 (23,1)	10/91 (11,0)	
	Ex-fumador	103/261 (39,5)	93/170 (55,0)	10/91 (11,0)	
HTA		251/261 (96,2)	165/170 (97,1)	86/91 (94,5)	0,19
Dislipemia		232/261 (88,9)	149/170 (87,7)	83/91 (91,5)	0,62
Hipercolesterolemia		147/261 (56,3)	90/170 (53)	57/91 (62,9)	
Hipertrigliceridemia		11/261 (4,2)	7/170 (4,1)	4/91 (4,4)	
Mixta		74/261 (28,3)	52/170 (31,6)	22/91 (24,2)	
Ecocardiograma					
FEVI (%) (n=228)		57,8 \pm 9,1	57,01 \pm 9,25	59,4 \pm 8,43	0,019
DD (mm) (n=222)		44,8 \pm 5,9	44,8 \pm 6,0	41,9 \pm 5,3	0,001
Septo IV (mm) (n=213)		10,41 \pm 1,48	10,6 \pm 1,5	10,1 \pm 1,5	0,078
TAS (mmHg)		137,7 \pm 17,8	136,8 \pm 15,8	139,5 \pm 21,1	0,29
TAD (mmHg)		73,5 \pm 12,6	74,6 \pm 13,1	71,6 \pm 10,8	0,052

Los pacientes fumadores (aquellos que continuaban fumando) tuvieron significativamente mayor UACR ($p=0,009$) que aquellos que nunca habían fumado (tabla 6 a). Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre varones y mujeres fumadores o entre varones y mujeres no fumadores (tabla 6 a).

Tabla 6 a. Relación entre tabaquismo y UACR (mg/g).

Variable	N	UACR	p	UACR varones	UACR mujeres	P
Fumador	49	281 [17-1354]	0,009	289 [46-874]	247 [31-629]	0,18
No fumador	107	102 [44-837]		113 [37-523]	86 [13-323]	0,14

Los valores normales promedio de diámetro diastólico de ventrículo izquierdo y septo interventricular en el ecocardiograma varían según edad y sexo como se indica en la tabla 6b (<http://www.rccc.eu/ppc/eco2/2m.htm>). En este sentido las mujeres tuvieron una media de grosor del septo IV más alejado del límite superior de la normalidad que los hombres, con valores de media de FEVI y DDVI que fueron normales en ambos sexos.

Tabla 6b. Valores de diámetro diastólico de ventrículo izquierdo (DD) y septo interventricular (IV) en función de edad y sexo. Datos expresados como n (%), media \pm DS.

Sexo	Varones	Mujeres
DD VI (mm)		
Normalidad	42-58	38-52
Este estudio	44,7 \pm 6	42,2 \pm 5
Septo IV (mm)		
Normalidad	6-10	6-9
Este estudio	10,5 \pm 1,5	10,3 \pm 1,4
FEVI (%)		
Normalidad	52-72	54-74
Este estudio	57,0 \pm 9,2	59,0 \pm 7,9

La tabla 7 recoge la medicación cardiovascular y nefroprotectora. El 94% de los pacientes recibían medicación antiproteinúrica, consistente en IECA, ARA2 o inhibidores de la aldosterona (espironolactona o eplerenona). Un 65% de pacientes recibía ARA2 y un 41% IECA, y 61% de ellos estaba en tratamiento con diuréticos, con un bajo uso de antagonistas de receptores mineralcorticoides (6%). Al inicio, un 11,4% estaban bajo doble bloqueo del SRA. Un 74% recibían otros hipotensores, el 83% estatinas y 19% alopurinol. El uso de pentoxifilina fue muy escaso. En general no se objetivaron diferencias entre hombres y mujeres, excepto un mayor uso de nitratos, anticoagulantes y antiagregantes plaquetarios en hombres.

Tabla 7. Medicación cardiovascular y nefroprotectora. Datos expresados como n (%).

Fármacos	Total n=261	Hombres n=170	Mujeres n=91	P
Medicación antiproteinúrica	246/261 (94.3)	162/170 (95.3)	84/91 (92.3)	0.48
IECA	107/261(40.6)	72/170 (42.4)	35/91 (38.5)	0.63
ARA2	170/261(65.1)	115/170 (67.6)	55/91 (60.4)	0.33
Antialdosterona	15/261 (5.7)	11/170 (6.5)	4/91 (4.4)	0.68
Diuréticos	160/261 (61.3)	105/170 (61.8)	55/91 (60.4)	0.94
HCTZ	119/261 (45.6)	80/170 (47.1)	39/91 (42.9)	0.6
Diurético de Asa	54/261 (20.7)	34/170 (20.0)	20/91 (22)	0.83
Otros hipotensores	192/261 (73.6)	125/170 (73.5)	67/91 (73.6)	1
Alfabloqueantes	58/261 (22.2)	37/170 (21.8)	21/91 (23.1)	0.93
Betabloqueantes	80/261 (30.7)	50/170 (29.4)	30/91 (33.0)	0.65
Antagonistas del calcio	149/261 (57.1)	96/170 (56.5)	53/91 (58.2)	0.88
Estatinas	217/261 (83.1)	140/170 (82.4)	77/91 (84.6)	0.77
Fibratos	36/261 (13.8)	26/170 (15.3)	10/91 (11.0)	0.44
Ezetimibe	36/261 (13.8)	20/170 (11.8)	16/91 (17.6)	0.27
Ácidos grasos omega 3	29/261 (11.1)	22/170 (12.9)	7/91 (7.7)	0.28
Nitratos	22/261 (8.4)	19/170 (11.2)	3/91 (3.3)	0.05
Pentoxifilina	4/261 (1.5)	3/170 (1.8)	1/91 (1.1)	1
Anticoagulantes y antiagregantes plaquetarios	177/261 (67.8)	123/170 (72.4)	54/91 (59.3)	0.045
Alopurinol	52/261 (19.9)	37/170 (21.8)	15/91 (16.5)	0.39

La tabla 8 recoge parámetros relacionados con la obesidad. Solo el 15% de los pacientes tenía peso normal y el resto tenía grados variables de sobrepeso u obesidad.

Las mujeres tenían mayor IMC y los hombres mayor perímetro abdominal.

Tabla 8. Índice de masa corporal (IMC) y perímetro abdominal. Datos expresados como n (%) o media \pm DS.

Obesidad	Total	Hombres	Mujeres	p
IMC (kg/m ²)(n=260)	30,2 \pm 5,3	29,5 \pm 5	31,3 \pm 5,7	0,0073
P, Abdominal (cm)(n=180)	107 \pm 13	108 \pm 13	103 \pm 12	0,046
Sobrepeso, n (%)				
Normopeso: IMC 18,5-24,9 Kg/m ²	38/261 (15)	27/170 (15)	11/91 (12)	0,018
Sobrepeso: IMC 20-29 Kg/m ²	82/261 (32)	63/170 (37)	19/91 (20)	
Obesidad I: IMC 30-34 Kg/m ²	81/261 (31)	49/170 (29)	32/91 (35)	
Obesidad II: 35-39,9 Kg/m ²	43/261 (16)	21/170 (12)	22/91 (24)	
Obesidad III >40 Kg/m ²	16/261 (6)	9/170 (5)	7/91 (7)	

La tabla 9 recoge parámetros hematológicos, nutricionales y metabólicos. Los únicos valores que como promedio se encontraban fuera del rango de la normalidad fueron la glucemia y la HbA1C. Los valores de hemoglobina, saturación de transferrina, prealbúmina, T3, sodio y potasio en orina fueron más bajos en mujeres y existió una tendencia a que las mujeres tuvieran valores más bajos de monocitos, ferritina y ácido úrico. Por el contrario, PCSK9, colesterol total, HDL colesterol, ácido fólico y T4 fueron más altos en las mujeres.

Hemos de destacar que la edad media de las mujeres era 70 años, por lo que la mayoría de ellas eran post-menopáusicas.

Tabla 9: Parámetros hematológicos, nutricionales y metabólicos. VCM: volumen corpuscular medio; IST: índice de saturación de transferrina; PCR: Proteína C reactiva; EF: excreción fraccional. Datos expresados como media ± DE o mediana [RIC]

	N	Total	Hombres	Mujeres	p
Leucocitos (N: 3,5 - 11 x 10 ³ /μl)	261	8302±2720	8282,6±2243,6	8296,9±3497,3	0,56
Linfocitos (N: 1200-3500 /μl)	261	2301±1798	2217,0±766,1	2444,7±2912,2	0,66
Monocitos (N: 200-800 /μl)	261	594±232	613,5±241,7	563,6±213,4	0,094
Neutrófilos (N: 1500-8000 /μl)	261	5092±724	5101,1±1681,9	5058,5±1809,7	0,75
Eosinófilos (N: 100-500 /μl)	261	281±261	312,6±275,4	206,7±181,1	1
Hemoglobina (N: 12-15 g/dl)	261	13,37±1,73	13,79±1,69	12,57±1,52	0,000
VCM (N: 80-100 fl)	261	90,4 [87,3-93,9]	90,5 [87,9-93,4]	90 [85,7-93,4]	0,23
IST (N: >20 %)	257	22 [17-29]	24 [18-30]	20 [18-26]	0,003
Transferrina (N: 215-360 mg/dl)	259	249±50,2	247±46,9	253±53,2	0,39
Ferritina (N: >100 ng/ml)	259	84 [48,5-178,5]	103 [53-188,5]	70 [32,5-140,2]	0,009
Vitamina B12 (N: 221 – 911 pg/ml)	234	412 [307-560]	400 [307-511]	431 [295-572]	0,5
Ácido fólico (N: >5,38 pg/ml)	229	7,11 [4,78-10,3]	6,65 [4,73—9,47]	7,86 [5,13-11,66]	0,024
Glucemia basal (N: 74 – 100 mg/dl)	261	143±54	132 [109-166]	133 [101-173]	0,90
HbA1C (N: 4-6 %)	260	7,6±1,36	7,63±1,32	7,57±1,4	0,71
Ácido úrico (H 3,7-9,2; M 3,1-7,8 mg/dl)	260	6,58±1,67	6,72±1,54	6,334±1,88	0,056
Albúmina (N: 3,2 - 4,8 g/dl)	259	4,11±0,38	4,2±0,6	4,1±0,4	0,49
Colesterol total (N: <200 mg/dl)	261	156,8±38,4	152,9±36,6	155±39,5	0,017
Colesterol LDL (N: <100 mg/dl)	256	85±31	81±32,5	79±34	0,86
Colesterol HDL (N: >45 mg/dl)	256	45±13	40±12	48±19	0,000
Triglicéridos (N: <150 mg/dl)	261	142±103	121,5±73	121±68	0,81
PCR (N: <0,5 mg/dl)	149	0,28 [0,11-0,75]	0,25[0,07-0,66]	0,35[0,14-1,1]	0,21
Prealbúmina (N: 20 - 40 mg/dl)	199	27,49±7,25	28,79±7,18	24,97±6,76	0,000
Vitamina A (N: 0,2-1 μg/ml)	173	0,75 [0,55-0,92]	0,2 [0,57-0,93]	0,66 [0,5-0,92]	0,23
Vitamina E (5 – 18 μg/ml)	172	13,3 [11,2-16,6]	13,15 [11,15-15,7]	13,45 [11,4-18,12]	0,20
Iones					
Na (N: 132-146 mmol/L)	260	139,59±2,98	139,5±3,05	139,7±2,8	0,65
K (N: 3,7-5,2 mmol/L)	260	4,65±0,47	4,65±0,46	4,64±0,47	0,76
CO₂ (N: 25-29 mmol/l)	229	26,90±3,88	27,04±3,95	26,65±3,75	0,38
Iones en orina					
Diuresis (mL)	244	1855,7±592,6	1918,2±628,8	1732,3±494,6	0,022
Sodio orina (mmol/L)	236	86,2±33,6	89,54±32,16	80,04±35,48	0,038
Potasio orina (mmol/L)	234	36,5±19,6	34 [26-47,5]	32 [24,5-40,5]	0,09
EF Na (%)	235	1,20 [0,83-1,78]	1,17 [0,81-1,16]	1,26 [0,87-1,77]	0,63
EF K (%)	233	15,56 [11,7-21,1]	15,38 [11-21,1]	16,73 [12,6-22]	0,23
Sodio orina (mmol/24h)	228	154±69	164,3±71,4	136,8±62,5	0,004
Potasio (mmol/24h)	228	61,58±23,38	64,82±24,55	55,23±19,54	0,003
Hormonas					
Aldosterona (N: 40-300 pg/mL)	213	94,4 [68-142,25]	93,7 [70,9-140]	95 [65,8-146]	0,968
TSH (N: 0,35 - 5,5 μUI/ml)	213	2,85±4,98	2,07 [1,41-3,01]	2,24 [1,41-3,72]	0,19
T3 (N: 2,3 - 4,2 pg/ml)	214	3,18±0,55	3,23±0,46	3,09±0,67	0,021
T4 (N: 0,78 - 1,53 ng/dl)	237	1,23±0,28	1,19±0,22	1,28±0,35	0,048

Tabla 9 (continuación):

Nuevos biomarcadores					
CXCL16 (ng/ml)	132	4,03±0,92	4,01±0,94	4,08±0,89	0,61
PCSK9 (ng/ml)	132	311,09±115,14	297,37±118,08	342,67±102,63	0,019
GDF 11 (pg/ml)	28	31,3[0; 171,23]	28,24[0; 130,1]	39,4[0; 260,8]	0,84
anti-β2 GPI IgA (SAU)	137	0 [0; 4,6]	0 [0;4,9]	0 [0;3,8]	0,72

Teniendo en cuenta que los valores normales del biomarcador anti-β2 GPI IgA son ≤ 20 SAU, existieron diferencias significativas entre los niveles normales y alterados de anti-β2 GPI IgA en los siguientes parámetros (**tabla 9b**):

Tabla 9b: Parámetros analíticos relacionados con anti-β2 GPI IgA

	anti-β2 GPI IgA (≤ 20 SAU) n=122	anti-β2 GPI IgA (> 20 SAU) n=19	p
Mg (mg/dl)	1,90±0,27	2,03±0,21	0,02
HbA1C (%)	7,56±1,28	6,90±1,00	0,03
EF fosfato (%)	23,09±11,96	18,85±11,55	0,05
EF Mg (%)	4,94±3,35	3,19±1,12	0,01

Los varones tuvieron con más frecuencia valores anormales de eosinófilos (altos) y HDL colesterol (bajo) Las mujeres tuvieron con más frecuencia valores anormales de IST (ferropenia), prealbúmina (baja), aldosterona (alta) y T3 (baja). (**Tabla 10**).

Tabla 10: Parámetros hematológicos, nutricionales y metabólicos anormales. Datos en n (%).

	N	Hombres	Mujeres	P
Leucocitos $>11 \times 10^3 / \mu\text{l}$	50/261 (19,1)	30/170 (17,6)	20/91 (22,0)	0,4
Linfocitos $\leq 1200 / \mu\text{l}$	24/261 (9,2)	13/170 (7,65)	11/91 (12,1)	0,23
Neutrófilos $>8000 / \mu\text{l}$	18/261 (6,9)	11/170 (6,5)	7/91 (7,7)	0,71
Eosinófilos $>500 / \mu\text{l}$	19/261 (7,3)	17/170 (10)	2/91 (2,2)	0,01
Hemoglobina $<10 \text{ g/dl}$	6/261 (2,3)	3/170 (65,1)	3/91 (3,3)	0,44
IST $<10 \%$	9/257 (3,5)	3/169 (1,8)	6/88 (6,8)	0,044
Ferritina $<20 \text{ ng/ml}$	21/259 (8,1)	10/170 (5,9)	11/89 (12,4)	0,07
Ferritina $>400 \text{ ng/ml}$	15/259 (5,8)	8/170 (4,7)	7/89 (7,9)	0,3
Vitamina B12 $<211 \text{ pg/ml}$	13/234 (5,6)	6/148 (4,0)	7/86 (8,1)	0,19
Ácido fólico $>5,38 \text{ pg/ml}$	76/229	52/144 (36,1)	24/85 (28,2)	0,21
Glucemia basal $>125 \text{ mg/dl}$	149/261	95/170 (55,9)	54/91 (59,3)	0,59
HbA1C $>7\%$	161/260 (61,9)	109/170 (64,1)	52/90 (57,8)	0,31
Ácido úrico $>8 \text{ mg/dl}$	46/260 (17,6)	32/169 (18,9)	14/91 (15,4)	0,47
Albúmina $<3.2 \text{ g/dl}$	4/259 (1,5)	4/168 (2,4)	0/91 (0)	0,13
Colesterol total $>200 \text{ mg/dl}$	25/261 (9,6)	14/170 (8,2)	11/91 (12,1)	0,31
Colesterol LDL $>100 \text{ mg/dl}$	60/256 (23,4)	40/167 (23,9)	80/89 (22,5)	0,79
Colesterol HDL $<45 \text{ mg/dl}$	103/256 (40,2)	79/167 (47,3)	24/89 (27,9)	0,0013
Triglicéridos $>150 \text{ mg/dl}$	81/261	54/170 (31,8)	27/91 (29,7)	0,72
PCR $>0.5 \text{ mg/dl}$	53/149 (35,6)	32/97 (32,9)	21/52 (40,4)	0,36
Prealbúmina $<20 \text{ mg/dl}$	28/199 (14,1)	10/131 (7,6)	18/68 (26,5)	0,0003
Iones				
K $>5.2 \text{ mmol/L}$	20/260 (7,7)	14/169 (8,3)	6/91 (6,6)	0,62
CO2 $<25 \text{ mEq/L}$	58/229 (25,3)	32/146 (21,9)	26/83 (31,3)	0,12
Iones en orina				
Sodio orina $<75 \text{ mmol/24h}$	22/228 (9,6)	10/150 (6,7)	12/78 (15,4)	0,03
Potasio $<40 \text{ mmol/24h}$	37/226 (16,3)	19/150 (12,7)	18/76 (23,7)	0,035
Hormonas				
Aldosterona $>300 \text{ pg/mL}$	13/240 (6)	5/139 (3,6)	8/75 (10,67)	0,044
TSH $<0.35 \mu\text{UI/ml}$	2/213 (0,9)	0/134 (0)	2/79 (0,9)	0,05
T3 $<2.3 \text{ pg/ml}$	5/214 (2,3)	1/135 (0,74)	4/79 (5,1)	0,04

La tabla 11 recoge tratamientos para parámetros hematológicos, nutricionales y metabólicos. El 57% de los pacientes recibían antidiabéticos orales y el 65% insulina. El uso de eritropoyetina y derivados era bajo (11%), pero un 24% de los pacientes tomaban hierro oral, especialmente mujeres (38%). El 35% tomaba omeprazol, un fármaco que se ha asociado a deterioro de la función renal (196). El porcentaje de pacientes con hipotiroidismo en tratamiento sustitutivo era relativamente alto (13%), especialmente entre las mujeres (24%), con buen control de los parámetros tiroideos.

Tabla 11. Tratamiento de parámetros hematológicos, nutricionales y metabólicos. Datos expresados como n (%).

	Total	Hombres	Mujeres	P
Antidiabéticos orales	149/261 (57,1)	98/170 (57,6)	51/91 (56)	0,91
Insulina	169/261 (64,8)	113/170 (66,5)	56/91 (61,5)	0,51
Eritropoyetina y derivados	28/261 (10,7)	14/170 (8,4)	14/91 (13,3)	0,30
Resinas de intercambio iónico	22/261 (8,1)	16/170 (9,6)	6/91 (6,7)	0,57
Omeprazol	91/261 (34,9)	57/170 (33,5)	35/91 (37,3)	0,53
Hierro oral	62/261 (23,8)	27/170 (16)	35/91 (38,5)	<0,001
Tiroxina	33/261 (12,6)	11/170 (6,5)	22/91 (24,2)	<0,001

La tabla 12 recoge parámetros de la enfermedad mineral y ósea y electrolitos. El único valor que como promedio se encontraba fuera del rango de la normalidad fue la 25-OH-vitamina D, que estaba baja. Los valores de 25 OH vitamina D, magnesuria y fosfaturia fueron más bajos en mujeres, consistentes con una menor ingesta o absorción del fosfato de la dieta y los de fosfatasa alcalina, más altos en mujeres. A pesar de la mayor absorción de fosfato, los niveles de fosfato sérico no fueron más altos en los hombres.

Tabla 12. Enfermedad mineral y ósea. Datos expresados como media±DS o mediana [rango intercuartílico]

	N	Total	Hombres	Mujeres	p
sCa corregido (mg/dl)	260	9,39±0,43	9,37±0,41	9,43±0,47	0,27
sP (mg/dl)	258	3,64±0,56	3,60±0,58	3,72±0,53	0,39
PTH (pg/ml)	254	57,5 [39,6-92,6]	56,7 [35,2-92,15]	59,5 [42,35-98,9]	0,18
Mg (mg/dl)	239	1,9±0,43	1,92±0,27	1,88±0,25	0,29
1,25 (OH) ₂ Vitamina D (pg/mL)	141	30,1±11,1	30,2±11,4	30,1±10,4	0,99
25 OH Vitamina D (ng/ml)	255	18,2±10,6	19,08±9,24	16,53±12,70	0,0002
FA (UI/l)	260	88,1±41	83,28±29,98	97,17±55,83	0,0045
Ca orina (mg/dl)	232	2,95 [1,57-6,42]	3,05 [1,55-6,45]	2,9 [1,5-6,5]	0,93
Ca orina (mg/24h)	221	48,15 [27,22-107,95]	48,37 [28-111,12]	48,9 [25,5-98,1]	0,56
EF Ca (%)	232	0,77 [0,37-1,19]	0,73 [0,38-1,18]	0,88 [0,36-1,3]	0,28
P orina (mg/dl)	229	35,5±5,1	37,28±14,15	32,16±16,46	0,015
P orina (mg/24h)	221	621,09±252,81	670,02±264,49	521,89±193,84	<0,0001
EF P (%)	229	22,4±11,5	12,5±12,5	20,28±8,91	0,075
Mg orina (mg/dl)	230	4,13±2,62	4,29±2,69	3,81±2,46	0,022
Mg orina (mg/24h)	222	72,12±41,7	77,58±45,23	60,96±30,78	0,0008
EF Mg (%)	229	5,08±3,53	5,20±3,88	4,86±2,71	0,69

La tabla 13 recoge el porcentaje de pacientes con algunos parámetros claves de enfermedad mineral anormales. Tanto hombres como mujeres tenían con frecuencia niveles de 25 OH vitamina D por debajo de la normalidad y un alto porcentaje tenían PTH elevada. Entre las anomalías de las concentraciones de minerales, la más frecuente fue la hipomagnesemia. La hipercalcemia fue más frecuente en mujeres, aunque en general fue infrecuente, lo que resta valor a la observación.

Tabla 13: Parámetros de enfermedad mineral anormales. Datos expresados como n (%).

	Total	Hombres	Mujeres	p
sCa <8.7 mg/dl	12/260 (4,6)	6/169 (3,5)	6/91 (6,6)	0,26
sCa >10.4 mg/dl	5/260 (1,9)	2/169 (1,2)	3/91 (3,3)	0,027
sP >5.1 mg/dl	1/258 (0,4)	0/168 (0)	1/90 (1,1)	0,15
PTH >70 pg/ml	102/254 (40,1)	62/165 (37,6)	40/89 (44,9)	0,25
sMg <1,3 mg/dl	12/230 (5,2)	6/152 (3,9)	6/78 (7,7)	0,23
1,25 (OH) ₂ Vitamina D <16 pg/mL	7/141 (4,9)	4/91 (2,84)	3/50 (2,13)	0,67
25 OH Vitamina D >50 ng/ml	3/255 (1,2)	1/167 (0,6)	2/88 (2,3)	0,25
25 OH Vitamina D <30 ng/ml	229/255 (89,8)	146/167 (87,4)	83/88 (94,3)	0,07
25 OH Vitamina D <20 ng/ml	163/255 (63,9)	100/167 (59,9)	63/88 (71,6)	0,06
FA >130 UI/l	24/260 (9,2)	15/169 (8,9)	9/91 (9,9)	0,78

La tabla 14 recoge tratamientos para la enfermedad mineral y ósea. El 39% de los pacientes recibían alguna forma de vitamina D, siendo el calcifediol la más frecuente (33% del total). Un 13% tomaban 25 OH vitamina D y además una forma activa de vitamina D. Un porcentaje bajo recibían un tratamiento con calcio (10%) o un quelante del fósforo (12%). No se objetivaron diferencias entre hombres y mujeres.

Tabla 14. Tratamiento para la enfermedad mineral y ósea. Datos expresados como n (%).

	Total	Hombres	Mujeres	p
Alguna vitamina D	101/261 (38,7)	67/170 (39,4)	34/91 (37,4)	0,74
Calcifediol	85/261 (32,6)	53/170 (31,2)	32/91 (35,2)	0,60
Paricalcitol	38/261 (14,6)	27/170 (15,1)	11/91 (12,1)	0,52
Calcitriol	11/261 (4,2)	5/170 (2,9)	6/91 (6,6)	0,20
Quelantes de fósforo	32/261 (12,3)	18/170 (10,6)	14/91 (15,4)	0,35
Calcio oral	27/261 (10,3)	15/170 (8,8)	12/91 (13,2)	0,37
Lantano	6/261 (2,3)	3/170 (1,8)	3/91 (3,3)	0,42
Sevelámero	19/261 (7,3)	10/170 (5,9)	9/91 (9,9)	0,35
Aluminio	15/261 (5,7)	7/170 (4,1)	8/91 (8,8)	0,21

1.1. Función renal y parámetros analíticos

Aunque es un estudio transversal, lo que no permite conclusiones definitivas, hubo una serie de parámetros analíticos que cambiaron dependiendo de la función renal, la mayor parte de ellos, esperados (**Figuras del anexo 1-18**)

Algunos parámetros tuvieron valores significativamente más bajos en pacientes con menor filtrado glomerular, como fueron los valores de hemoglobina y $1,25(\text{OH})_2$ vitamina D.

La excreción fraccional de sodio, potasio, magnesio y fósforo aumentó en los estadios avanzados de enfermedad renal. También aumentaron significativamente conforme desciende el filtrado glomerular los niveles de folato, vitamina A y B12, aldosterona y PTH.

La proteinuria total y albuminuria se mantuvieron estables hasta filtrados por debajo de 30 ml/min/1,73 m² en que se produjo un incremento significativo de ambas.

En algunos parámetros se observaron diferencias estadísticamente significativas tanto entre los diferentes estadios de función renal como entre varones y mujeres.

La hemoglobina fue menor en mujeres que en hombres en las categorías G1-G3, pero se igualó a partir de la categoría G4 (**tabla 15**). El ácido úrico fue en general menor en las mujeres con respecto a los hombres, aunque se iguala a partir de la categoría G3a (**tabla 16**). La fosfaturia

fue menor en mujeres en todas las categorías, excepto en G1, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas en G4 y G5 (**tabla 17**). Sin embargo, no hubo diferencias en la fosfatemia entre sexos (**tabla 18**). La albuminuria aumenta de forma exponencial en hombres en los estadios G3b, G4 y G5 (**tabla 19**). Este aumento no se observó en las mujeres hasta el estadio G5.

Tabla 15. Hemoglobina según categoría G y sexo. Datos expresados como media±DS. La diferencia entre estadios de función renal estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

Hemoglobina (g/dl)	Total	Hombres	Mujeres	p
G1	14,32±1,57	14,81±1,43	13,05±1,16	0,0011
G2	14,05±1,49	14,37±1,45	13,40±1,38	0,0094
G3a	13,65±1,78	14,02±1,73	12,92±1,67	0,012
G3b	12,71±1,54	13,29±1,24	11,8±1,54	0,0001
G4	12,45±1,48	12,53±1,69	12,28±0,98	0,77
G5	11,79±1,36	12,5±1,52	11,22±1,01	0,32

Tabla 16. Ácido úrico sérico según categoría G y sexo. Datos expresados como media±DS. Hubo diferencias estadísticamente significativas entre estadios de función renal ($p < 0,001$).

Ácido úrico (mg/dl)	Total	Hombres	Mujeres	P
G1	5,42±1,52	5,65±1,34	4,84±1,83	0,1
G2	6,24±1,53	6,68±1,24	5,35±1,67	0,018
G3a	6,53 ±1,48	6,66±1,62	6,26±1,14	0,45
G3b	6,97 ±1,735	7,18±1,62	6,63±1,88	0,13
G4	7,38±1,642	7,05±1,57	8,03±1,64	0,06
G5	7,422±1,204	7,75±0,54	7,16±1,58	0,4

Tabla 17. Fósforo en orina según categoría G y sexo. Datos expresados como media±DS. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre estadios de función renal ($p=0,14$).

Fosfatúria (mg/24h)	Total	Hombres	Mujeres	p
G1	687±237	671±244	734±227	0,69
G2	660±287	719±292	537±239	0,03
G3a	575±228	628±232	486±197	0,03
G3b	644±280	724±307	485±104	0,006
G4	564±211	600±234	481±106	0,19
G5	529±167	637±201	448±93	0,15

Tabla 18. Fósforo sérico según categoría G y sexo. Datos expresados como media±DS. Hubo diferencias estadísticamente significativas entre estadios de función renal ($p<0,001$).

Fósforo (mg/dl)	Total	Hombres	Mujeres	P
G1	3,60±0,50	3,55±0,54	3,63±0,27	NS
G2	3,51±0,52	3,54±0,55	3,37±0,43	
G3a	3,52±0,54	3,39±0,55	3,70±0,43	
G3b	3,60±0,50	3,63±0,54	3,55±0,44	
G4	3,90±0,59	3,81±0,62	4,06±0,48	
G5	4,46±0,52	4,35±0,46	4,54±0,60	

Tabla 19. UACR según categoría G y sexo. Datos expresados como Mediana [rango intercuartil]. Hubo diferencias estadísticamente significativas entre estadios de función renal ($p=0,014$).

UACR (mg/g)	Total	Hombres	Mujeres	
G1	153 [47-387]	245 [57-452]	86 [15-174]	0,1
G2	158 [66,2-291,4]	176 [82-176]	104 [49-291]	0,27
G3a	87 [27-505]	68 [25-544]	106 [45-480]	0,44
G3b	144 [17-490]	182 [32-992]	45,4 [7-417]	0,05
G4	321 [16-1026]	515 [120-1197]	17 [11-401]	0,03
G5	921 [361-2321]	953 [460-2006]	920 [196-2814]	1

De las 91 mujeres en la población de estudio, 14 se encontraban en edad fértil o pre menopausia (definido como menores de 55 años) y 77 eran menopáusicas (por encima de 55 años). Teniendo en cuenta que tradicionalmente el riesgo cardiovascular se equipara tras la menopausia por el

menor efecto protector de los estrógenos en la mujer, se determinaron las diferencias entre hombres y mujeres menopáusicas, que se detallan en la **tabla 20**.

En general se observaron las mismas diferencias entre el grupo completo de mujeres y los hombres que entre las mujeres postmenopáusicas y los hombres. No obstante, los niveles de ácido úrico perdieron las diferencias entre hombres y mujeres menopáusicas y otras variables como los niveles de PTH fueron significativamente mayores en las mujeres postmenopáusicas que en los hombres.

No hubo tampoco diferencias estadísticamente significativas en la enfermedad cardiovascular, retinopatía diabética ni pautas de tratamiento entre los varones y las mujeres postmenopáusicas.

Las mujeres por encima de los 55 años tuvieron significativamente mayor TAS que los varones, estas diferencias no habían resultado significativas en la cohorte general.

Tabla 20: diferencias entre hombres y mujeres por encima de los 55 años (edad media menopausia). El valor de p indica las diferencias entre hombres y mujeres menopáusicas.

	Total	Hombres	Mujeres (>55 años)	Mujeres (todas)	P
Hb (g/dl)	13,37±1,73	13,79±1,69	12,55±1,59	12,57±1,52	0,0001
25 OH Vitamina D (ng/ml)	18,2±10,6	19,08±9,24	16,08±11,49	16,53±12,70	0,0002
IST (%)	22 [17-29]	24 [18-30]	20 [18-26]	20 [18-26]	0,003
Ferritina (ng/ml)	84 [48,5-178,5]	103 [53-188,5]	70 [32,5-140,2]	70 [32,5-140,2]	0,043
Ácido fólico (pg/ml)	7,11 [4,78-10,3]	6,65 [4,67-6,65]	7,93 [5,21-12]	7,86 [5,1-11,6]	0,021
Colesterol total (mg/dl)	157±38	153±37	163±41	155±39	0,017
Colesterol HDL (mg/dl)	45±13	42±12	49±13	48±19	<0,0001
Prealbúmina (mg/dl)	27,49±7,25	28,79±7,18	25,16±7,03	24,97±6,76	0,0004
Iones en orina					
Na orina (mmol/24h)	154±69	164±71	139±65	137±62	0,0128
P (mmol/24h)	64,71±48,14	63,8 [47,32-80]	54,3 [47,3-80]	55 [40-68,2]	0,0025
Hormonas					
T3 (pg/ml)	3,18±0,55	3,23±0,46	3,13±0,61	3,09±0,67	0,03
T4 (ng/dl)	1,23±0,28	1,19±0,22	1,28±0,35	1,28±0,35	0,048
Marcadores de filtrado glomerular					
FGe MDRD4 (ml/min/1,73m²)	53,7±24,6	55,9±25,3	45,83±20,11	49,6±22,7	0,005
FGe CKD-EPI (ml/min/1,73m²)	54,8±25,8	56,3±25,7	47,01±22,06	52,0±25,8	0,01
CrCl (ml/min)	62,5±34,3	62 [41,5-91,0]	45 [31-64]	47,5 [33-71,3]	0,0006
Proteinuria y albuminuria					
Proteinuria (mg/dl)	19,2 [7,9-55,5]	24,3 [9-66]	13,9 [6,3-36]	13,5 [6,3-36]	0,011
Proteinuria (mg/24 h)	363 [148-875]	464 [162-1125]	254 [120-564]	241 [111-560]	0,0088
Albuminuria (mg/24)	182 [41-515]	247 [60-645]	102 [16-424]	87 [12-275]	0,001
UACR (mg/g)	156 [37-499]	187 [50-592]	102 [16-404]	99 [15-403]	0,043
Marcadores óseos					
PTH (pg/ml)	57,5 [39,6-92,6]	56,7 [35,2-92,15]	67,5 [45,4-105,5]	59,5 [42,4-98,9]	0,038
25 OH Vitamina D (ng/ml)	18,2±10,6	19,08±9,24	16,08±11,49	16,53±12,70	0,0002
FA (UI/l)	88,1±41	83,28±29,98	100,28±59,40	97,17±55,83	0,0014
P orina (mg/24h)	622±253	670±264	495±163	522±194	<0,0001
Mg orina (mg/24h)	72,1±41,7	77,5±45,2	57,9±30,6	60,96±30,78	0,0001
Biomarcadores					
PCSK9 (pg/ml)	309±115	297±118	344±98	343±103	0,013
Riesgo cardiovascular					
TAS (mmHg)	137,7±17,8	136,8±15,7	141,7±21,3	141,7±21,3	0,038
TAD (mmHg)	73,5±12,6	74,6±13	71,20±10,9	71,20±10,9	0,049

En la **tabla 21** se destacan algunas diferencias entre las mujeres mayores y menores de 55 años. Las mujeres menopáusicas tuvieron valores significativamente mayores de ácido úrico con respecto a las no menopáusicas, asemejándose a los valores de los varones. A esta observación puede contribuir tanto la desaparición del efecto estrogénico como el hecho de que el FGe por CKD EPI fue significativamente menor en las mujeres menopáusicas que en las no menopáusicas, como corresponde también a su mayor edad.

La eliminación de calcio y fósforo en orina fue significativamente menor en las pacientes menopáusicas, representando probablemente una menor ingesta, pero sin poder descartar mayor balance positivo por la menor función renal.

Las mujeres pre-menopáusicas tuvieron una tendencia hacia unos valores menores de CXCL16 en suero comparadas con las mujeres menopáusicas (**tabla 21**).

Tabla 21: Diferencia de parámetros entre mujeres menopáusicas, no menopáusicas y hombres. El valor de p representa la diferencia entre mujeres pre y post- menopáusicas.

	Total	Hombres	Mujeres (>55 años)	Mujeres (<55 años)	p
Ácido úrico (mg/dl)	7,60±1,36	7,63±1,32	6,63±1,79	4,67±1,46	0,0003
PTH (pg/ml)	57,5 [39,6-92,6]	56,7 [35,2-92,15]	67,5 [45,4-105,5]	44,2 [33,2-62,7]	0,038
Iones en orina					
Na orina (mmol/24h)	154,0±69,0	164,3±71,4	138,5±65,4	136,8±62,5	0,0128
K orina (mmol/24h)	64,7±48,1	69,6±57,2	54,3±19,7	60,9±18,7	0,0025
EF Na (%)	1,20 [0,83-1,78]	1,17 [0,81-1,16]	1,32 [0,95-1,95]	0,83 [0,49-1,09]	0,018
EF K (%)	15,56 [11,77-21,07]	15,38 [11-21,11]	17,10 [13,76-23,37]	12,13 [8,03-16,88]	0,0097
P orina (mg/24h)	621,09±252,81	670,02±264,5	494,52±163,2	661,06±274,53	0,046
Ca orina (mg/24h)	48,15 [27,22-107,95]	48,37 [28-111,12]	42,06 [24,45-83,6]	92,4 [46,2-176,5]	0,0071
EF fosfato (%)	22,4±11,5	23,5±12,5	21,26±9,27	15,42±4,53	0,02
Marcadores de FG					
FGe CKD-EPI (ml/min/1,73m ²)	54,8±25,8	56,3±25,7	47,01±22,06	79,6±28,04	0,0001
CrCl (ml/min)	62,5±34,3	66,86±36,16	49,83±26,15	75,80±32,94	0,0059
Biomarcadores					
CXCL16 (pg/ml)	4,03±0,92	4,01±0,94	4,22±0,96	3,64±0,48	0,07
Riesgo cardiovascular					
TAS (mmHg)	137,7±17,8	136,8±15,7	141,7±21,3	127,3±15,3	0,0059
Septo IV (mm)	10,41±1,48	10,6±1,5	10,33±1,43	8,9±1,02	0,0014

2. Evolución de la función renal y proteinuria en la población total

A continuación, se describe la evolución de la función renal estimada como filtrado glomerular (FGe) y de la proteinuria en tres momentos, basal, intermedio y final. Los pacientes fueron seguidos durante un promedio de $30,09 \pm 10,08$ meses (final), con un periodo intermedio de seguimiento de $7,04 \pm 2,65$ meses.

Objetivamos que el FGe disminuye durante el seguimiento si se estima por CKD-EPI, pero no si se estima por MDRD4. Es posible que esta observación esté relacionada con la poca fiabilidad de MDRD4 para valores de FGe >60 ml/min/1,73 m². La disminución del FGe fue mayor desde el momento basal hasta el punto medio de seguimiento que desde este punto hasta el final, sugiriendo un efecto de la intervención terapéutica. Además, tanto la UACR como la UPCR disminuyen durante el seguimiento, posiblemente como consecuencia de la optimización del tratamiento.

Tabla 22. Evolución de filtrado glomerular estimado (FGe) y de UACR y UPCR a lo largo del seguimiento. Datos expresados como media \pm ES o mediana [RIC].

Tiempo	Basal	Medio	Final
FGe MDRD4 (ml/min/1,73 m ²)	53,4 \pm 1,5	51,2 \pm 1,5	52,1 \pm 1,8
FGe CKD-EPI (ml/min/1,73 m ²)	54,4 \pm 1,6	52,06 \pm 1,5	51,5 \pm 1,8
UACR (mg/g)	158 [37-507]	160 [36- 477]	118 [26- 486]
UPCR (mg/g)	329 [132-917]	313 [150-777]	262 [105-777]

Como los valores de la **tabla 22** corresponden a periodos de seguimiento de diversa duración para cada paciente individual, en la **tabla 23** se muestran las pendientes estimadas entre el momento basal y el final de seguimiento (teniendo en cuenta el tiempo de seguimiento real para cada paciente. Comprobamos de nuevo que la estimación de FGe mediante CKD-EPI objetiva una pérdida de FGe a lo largo del seguimiento, mayor que el observado al estudiar FGe MDRD4. Sin embargo, el descenso de FGe en el conjunto de los pacientes con ERC y

diabetes es similar al observado en la población general (en torno a 1 ml/min/1,73 m²/año). No se objetivó pendiente para UACR mientras que la UPCR bajó un 3,17 %/año.

Tabla 23. Pendientes estimadas para cada variable mediante delta de FG y delta de UACR y UPCR. Estas tendencias se obtienen con el tiempo exacto de seguimiento por paciente. Datos expresados como media \pm DS o mediana [RIC] según pendiente de descenso de filtrado glomerular.

Variable	Pendiente
FGe MDRD4 (ml/min/1,73m ² /año)	-0.44 \pm 6,85
FGe CKD EPI (ml/min/1,73m ² /año)	-1,16 \pm 5,9
UACR (% cambio/año)	0,02 [-8,5;16,1]
UPCR (% cambio/año)	-3,17 [-7,8; 5,3]

2.1. Evolución de la función renal y proteinuria en función del FGe basal

A continuación, evaluamos la evolución del FGe y de la proteinuria en función del FGe basal. Observamos que el FGe basal tiene un impacto significativo sobre la evolución de FGe y proteinuria. Los pacientes con FGe basal <30 o >90 ml/min/1,73m² perdieron de forma significativa FGe durante el seguimiento, si bien en los de categoría G1 esto pudo significar mejoría de la hiperfiltración. De hecho, en la categoría G1 la disminución del FGe se produjo en la primera mitad del seguimiento (-10 ml/min/1,73m²) y luego permaneció estable en la segunda mitad. Por el contrario, en los pacientes en categoría G4/G5 la pérdida de FGe fue más llamativa en la segunda mitad del seguimiento y la pérdida de FGe durante el seguimiento correspondió a un porcentaje importante de la función renal basal (-18% para G4 y -27% para G5) (**tabla 24**).

Tabla 24 Evolución de FGe (CKD-EPI, ml/min/1,73m²), albuminuria (UACR, mg/g) y proteinuria (UPCR, mg/g) en función del FGe basal (CKD-EPI, ml/min/1,73m²) expresado como categorías G de KDIGO. Se muestran la situación basal y dos puntos de seguimiento. Resultado expresado como media±ES.

FGe CKD-EPI (ml/min/1,73m ²)	Variable	Basal	Medio	Final	p
G5 (n=9)	FGe (ml/min/1,73m ²)	12.94±0.76	11.28±1.16	9.41±1.41	
	UACR (mg/g)	618.2±263.4	595.7±325.4	388.7±217.1	
	UPCR (mg/g)	1469±390.8	1823±751.0	979±487.3	
G4 (n=44)	FGe (ml/min/1,73m ²)	23.61±0.69	23.97±1.04	19.29±1.29	<0.001
	UACR (mg/g)	184.4±61.2	209.0±68.1	285.1±91.7	0.043
	UPCR (mg/g)	523.9±126.6	537.6±126.9	615.2±167.6	0.61
G3b (n=56)	FGe (ml/min/1,73m ²)	38.87±0.58	39.06±1.26	37.28±1.70	0.49
	UACR (mg/g)	95.69±29.23	91.00±27.20	82.15±23.77	0.63
	UPCR (mg/g)	315.2±62.3	302.4±57.3	238.6±51.0	0.15
G3a (n=56)	FGe (ml/min/1,73m ²)	53.20±0.51	51.71±1.26	51.40±1.98	0.33
	UACR (mg/g)	97.88±25.34	92.52±24.44	68.38±18.73	0.17
	UPCR (mg/g)	338.8±57.8	307.2±47.3	216.8±41.6	0.017
G2 (n= 60)	FGe (ml/min/1,73m ²)	74.34±1.16	71.01±1.94	74.08±2.26	0.07
	UACR (mg/g)	122.2±25.6	89.7±19.3	88.1±20.8	0.047
	UPCR (mg/g)	297.5±40.4	241.6±34.7	208.8±37.4	0.077
G1 (n=36)	FGe (ml/min/1,73m ²)	97.24±1.01	87.66±2.42	88.02±3.77	<0.001
	UACR (mg/g)	167.4±46.9	157.6±38.5	124.1±40.0	0.34
	UPCR (mg/g)	444.4±102.8	420.4±82.8	357.9±108.3	0.73

La **figura 2** muestra de forma gráfica estos datos, en concreto, la evolución de FGe (ml/min/1,73 m²) y UACR (mg/g) en tres momentos claves del seguimiento en función del FGe CKD-EPI basal. Se observa como el FGe permaneció estable desde el periodo intermedio al final del seguimiento en los pacientes con FGe basal >45 ml/min/1,73m² y disminuyó en los que tenían FGe basal <45 ml/min/1,73m². Los pacientes con FGe 30-45 ml/min/1,73m² fueron los únicos en los que aumentó la UACR durante el estudio.

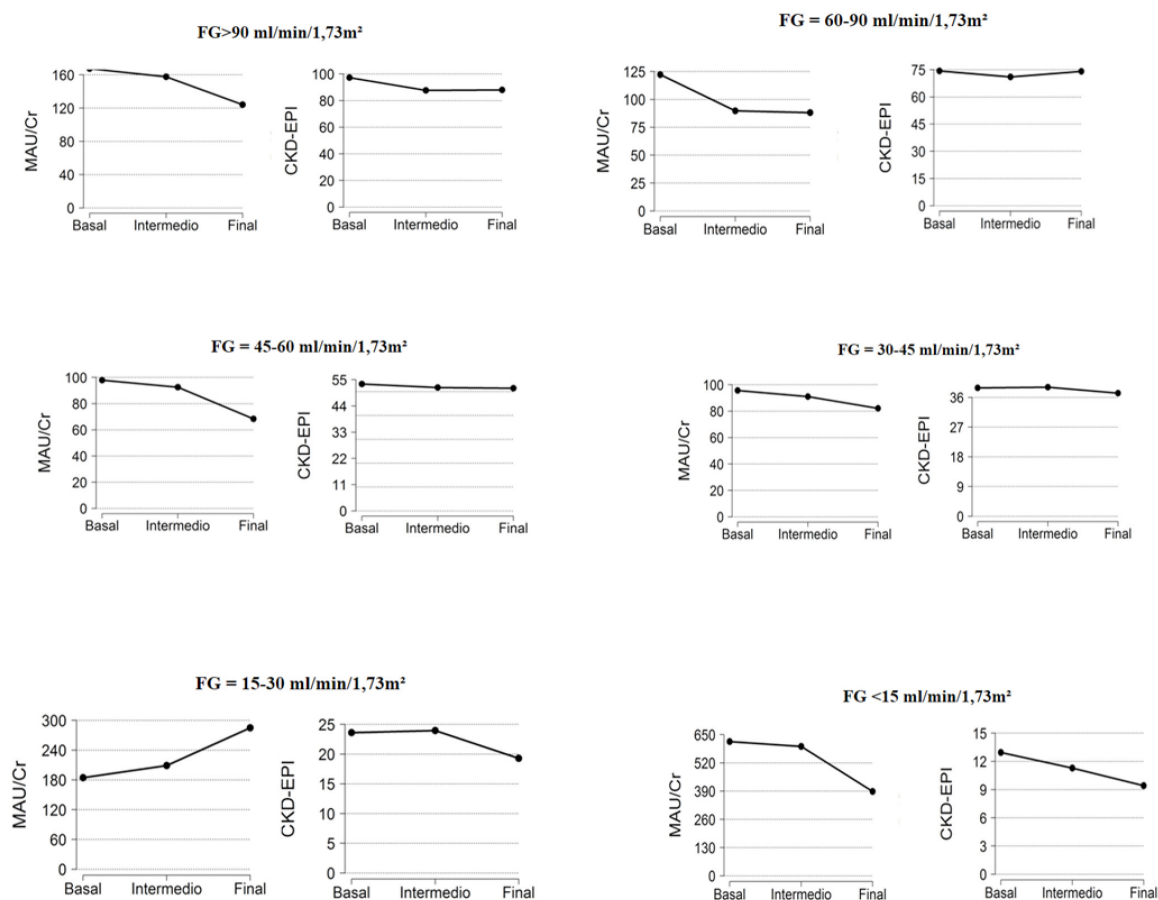


Figura 2 Evolución de FGe CKD-EPI (ml/min/1,73m²), UACR (albuminuria/creatinina en orina expresado en mg/g) en tres momentos claves del seguimiento en función del FGe CKD-EPI basal. Datos expresados como media. Nótese que la escala difiere en las distintas gráficas

Cuando se evaluó la pendiente de pérdida de función renal a lo largo de todo el seguimiento, esta fue significativa únicamente para los pacientes en categoría G4 ($-2,35 \pm 0,45$ ml/min/1,73 m²/año; $p < 0,001$), aunque también existió una tendencia en la categoría G5, con un número de pacientes mucho menor. Sin embargo, en las categorías G2-G3 el FGe permaneció estable, tanto desde el punto de vista de valores absolutos de la pendiente, no diferentes a la pérdida fisiológica con la edad de -1 ml/min/1,73m², como desde el punto de vista de la significación estadística. Si existió una tendencia a un descenso mayor de lo esperado en la categoría G1, que como hemos indicado antes, podría deberse a la desaparición de la hiperfiltración (**tabla 25**).

La peor evolución del FGe en la categoría G4 se asoció a un aumento significativo de la albuminuria (**tabla 24**) y de la pendiente del aumento de la albuminuria (**tabla 25**), hecho que

no se observó en ninguna de las otras categorías. Al contrario, tanto la proteinuria como la albuminuria tendieron a descender en las otras categorías (**Tabla 24 y 25**), aunque solo alcanzó significación estadística la pendiente de proteinuria en la categoría G3a (**tabla 25**).

Tabla 25. Pendiente de evolución de FGe (CKD-EPI, ml/min/1,73 m²/año), albuminuria (UACR, % de cambio/año) y proteinuria (UPCR, % de cambio/año) en función del FGe basal (CKD-EPI, ml/min/1,73 m²). Resultado expresado como media±ES.

FG	Variable	Pendiente	P
G5	FGe (ml/min/1,73 m ²)	-1.89±0.97	0.074
	UACR (mg/g)	-21±10	0.084
	UPCR (mg/g)	-18±8	0.070
G4	FGe (ml/min/1,73 m ²)	-2.35±0.45	<0.001
	UACR (mg/g)	16±8	0.030
	UPCR (mg/g)	2±6	0.72
G3b	FGe (ml/min/1,73 m ²)	-0.92±0.59	0.12
	UACR (mg/g)	-3±6	0.63
	UPCR (mg/g)	-9±5	0.061
G3a	FGe (ml/min/1,73 m ²)	-0.24±0.76	0.75
	UACR (mg/g)	-11±7	0.11
	UPCR (mg/g)	-15±5	0.006
G2	FGe (ml/min/1,73 m ²)	0.37±0.71	0.60
	UACR (mg/g)	-9±7	0.19
	UPCR (mg/g)	-11±6	0.10
G1	FGe (ml/min/1,73 m ²)	-2.07±1.25	0.10
	UACR (mg/g)	-10±7	0.16
	UPCR (mg/g)	-7±9	0.47

En las **tablas 26-28** mostramos la pendiente de pérdida de FGe en función del FGe y la albuminuria basal, esto es en función de las categorías G y A basales. Al interpretar estos datos hay que tener en cuenta que algunas combinaciones G y A la n es pequeña. Además, mostramos estos datos separados por sexo (tabla 27 y tabla 28).

Tabla 26: Pendientes de pérdida de FGe por CKD-EPI en función de la categoría G y A basales. Datos expresados como mediana [RIC]

	A1	A2	A3	Total
G1	1.85 [-1.09; 7.45] N=6	-0.65 [-3.73; 3.11] N=16	-3.48 [-11.5; -0.94] N=12	-0,68 [-4,76; 1,95] N= 34
G2	2,95 [0,11-; 6,54] N=8	-0,47 [-4,62; 5,14] N= 36	-5,19 [-8,90; -0,48] N=11	-0,50 [-4,79; 4,81] N= 55
G3	1,40 [-0,38; 5,12] N= 32	-2,02 [-3,79; 4,55] N= 40	-2,87 [-5,24; -0,27] N= 34	-0,36 [3,62; 3,59] N= 106
G4	0,33 [-3,42; -2,08] N= 13	-1,59 [-2,33; 0,46] N= 8	-3,64 [-5,12; - 1,92] N= 23	-2,17 [-4,62; 0,28] N= 44
G5	0	-3,12 [-4,58; -1,66] N= 2	-1,89 [-4,23; -0,001] N= 5	-1,89 [-4,58; 0,55] N= 7
Total	1,70 [-0,64 ; 4,81] N=59	-0,63 [-3,98; 3,94] N= 102	-3,05 [-5,71; -0,57] N= 85	N=246

Tabla 27: Pendientes de pérdida de FGe por CKD-EPI en función de la categoría G y A basales en varones. Datos expresados como mediana [RIC]

	A1	A2	A3	Total hombres
G1	-0,64 [-2,3;5,99] N=3	-0,63 [(-6,36; 1,37)] N=11	-2,24 [-11,61; -0,63] N=11	-2,03 [-5,76;] N=25
G2	2,8 [-1,3; 3,96] N= 5	-0,5 [-6,11-5,34] N= 25	-5,98 [-9,06-3,69] N= 7	-0,68 [-6,45; 4,58] N=37
G3	3,04 [-0,28;5,58] N= 19	-2,06 [-3,44; 3,58] N=16	-3,05 [-4,64; -0,28] N=23	-0,63 [-3,43; 2,76] N= 58
G4	1,57 [-0,75; 2,06] N=5	-0,71 [-2,89; 3,48] N=6	-4,24 [-7,7; -2,19] N=18	-2,40 [-4,80; 0,16] N= 29
G5			-0,55 [-2,69; 0,55] N=5	-0,55 [-2,69; 0,55] N=5
Total	2,43[-0,36; 4,75] N= 32	-0,60[-3,79; 3,5] N= 58	-3,26 [-6,38; -0,63] N= 64	N=154

Tabla 28: Pendientes de pérdida de FGe por CKD-EPI en función de la categoría G y A basales en mujeres.
 Datos expresados como mediana [RIC]

	A1	A2	A3	Total mujeres
G1	4,34 [-0,68;11,83] N=3	-0,65 [--2,33; 6,84] N=5	-11,1 N=1	-0,65 [-2,33; 6,84] N= 9
G2	7,12 [2,18; 20,06] N=3	-0,45 [-4,2; 3,9] N= 11	-0,56 [-5,29; 0,50] N= 4	-0,47 [-3,85; 4,26] N= 18
G3	-0,26 [-1,71; 3,48] N= 13	-1,13 [-4,86; 5,26] N=14	-2,68 [-5,65; 1,53] N=11	-0,36 [-4,81; 3,95] N= 38
G4	-1,10 [-7,22;2,15] N=8	-1,98 [-2,33; -1,62] N=2	-2,11 [-2,94; 1,577] N=5	-1,92 [-3,64; 1,93] N= 15
G5		-3,12 [-4,58; -1,66] N=2	-3,84 [-5,77; -1,89] N=2	-3,23 [-5,47; -1,72] N=4
Total	0,70 [-1,57; 5,04] N= 27	-0,66 [-4,05; 4,15] N= 34	-2,11 [-5,65; -0,48] N= 23	N= 84

Globalmente se observa cómo hay pérdida progresiva del FGe en pacientes de las categorías A3 y G4, tanto en hombres como en mujeres. En ambas categorías la pendiente en mujeres fue numéricamente menor, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p= 0,38$ y $p=0,36$ respectivamente).

A continuación, evaluamos la situación del paciente en el último punto del seguimiento de los 233 pacientes para los que se dispone de FGe y albuminuria.

Se objetivó un ligero desplazamiento hacia menores categorías de UACR y hacia mayores categorías de G durante el seguimiento, aunque la categoría más frecuente sigue siendo G3A2.

Tabla 29: número de pacientes en cada categoría G y A al final del estudio:

	A1	A2	A3	Total
G1	9 (4%)	14 (6%)	2 (1%)	25 (11%)
G2	17 (7%)	28 (12%)	19 (8%)	64 (27%)
G3	31 (13%)	37 (16%)	18 (7%)	86 (37 %)
G4	5 (3%)	11 (4%)	17 (7%)	33 (14%)
G5	2 (1%)	5 (3%)	18 (7%)	25 (11%)
Total	61 (23%)	108 (42%)	91 (25%)	233 (100%)

	A1	A2	A3	Total hombres
G1	5 (3%)	9 (6%)	2 (2%)	16 (11%)
G2	12 (8%)	18 (11%)	15 (10%)	45 (29%)
G3	16 (10%)	24 (16%)	16 (10%)	56 (36%)
G4	1 (1%)	7(5%)	12 (8%)	20 (14%)
G5	1 (1%)	2 (1%)	13 (8%)	16 (10%)
Total	53(27%)	95(41%)	74 (32%)	153 (100%)

	A1	A2	A3	Total mujeres
G1	4 (5%)	5 (6%)	0	9 (11%)
G2	5 (6%)	10 (13%)	4 (5%)	19 (24%)
G3	15 (19%)	13 (16%)	2 (3%)	30 (38%)
G4	4 (5%)	4 (5%)	5 (6%)	13 (16%)
G5	1 (1%)	3 (4%)	5 (6%)	9 (11%)
Total	29 (36%)	30 (44%)	16 (20%)	80 (100%)

2.2. Variables asociadas a la pérdida de FGe

En las siguientes tablas se resumen las variables que podrían estar asociadas con la pendiente de caída de FGe CKD-EPI, ajustado por edad, UACR y FGe-CKD EPI basales. **La tabla 30** muestra el total de la población.

Un coeficiente positivo indica una mejor evolución de la nefropatía: a mayores valores de esa variable, es más lenta la pérdida de FGe. Se muestran los resultados para aquellas variables que en el modelo ajustado presentan una $p < 0,1$. Las variables no se ajustaron por sí mismas.

Entre los factores cuyos valores más altos se asocian a más velocidad de progresión se encuentra la albuminuria, proteinuria y la presencia de HTA, además de una TAS más elevada (**tabla 30.a**). Asimismo, se asociaron con una mayor velocidad de progresión cifras más elevadas de LDH y TSH.

Entre las variables cuyos valores más altos se asociaron a una progresión más lenta de la enfermedad renal encontramos la albúmina plasmática y la glucosuria (**tabla 30 b**) La glucosuria no estaba interferida por el uso de inhibidores de SGLT2.

De entre los nuevos biomarcadores, los niveles más altos de CXCL16 se asociaron a mayor velocidad de progresión y los de GDF11 a una progresión más lenta en el análisis univariable realizado por modelos de efectos mixtos (dato no mostrado en la tabla), pero no cuando se ajustó para edad, UACR y FGe-CKD EPI basal.

Tabla 30 Factores basales asociados a la pérdida de FGe estimado por CKD-EPI. Modelos ajustados por FGe por CKD-EPI inicial, edad y UACR inicial, ordenados por magnitud del valor de p. Solo se muestran las variables con una $p < 0,1$.

c) Variables asociadas a mayor velocidad de progresión.

Variable	Coefficiente	IC al 95%	p
UACR (mg/g)	-1,219	(-1,784, -0,653)	0,000
HTA	-12,618	(-17,81, -7,430)	0,000
TAS (mmHg)	-0,067	(-0,128, -0,006)	0,033
LDH (mg/dl)	-0,011	(-0,021, -0,001)	0,040
TSH (μ UI/ml)	-1,729	(-3,379, -0,079)	0,040
FA (UI/L)	-2,906	(-5,843, 0,030)	0,052
Triglicéridos (mg/dl)	-2,094	(-4,203, 0,014)	0,052
Colesterol total (mg/dl)	-0,025	(-0,053, 0,003)	0,077
Arritmia	-2,719	(-5,751, 0,313)	0,079
Vitamina E (μ g/ml)	-0,173	(-0,373, 0,027)	0,089
Retinopatía diabética			0,097
Moderada-grave	-2,575	(-5,967, 0,816)	
Edema macular	-2,568	(-6,469, 1,333)	

d) Variables asociadas a menor velocidad de progresión.

Variable	Coefficiente	IC al 95%	P
25 OH Vit. D (ng/ml)	1,637	(-0,308, 3,582)	0,099
Albúmina (g/dl)	4,522	(1,497, 7,547)	0,004
Glucosuria (+)	0,008	(0,002, 0,014)	0,008

2.5. Evolución de la función renal y proteinuria en función del sexo

A continuación, analizamos la evolución de la función renal y proteinuria estratificando por sexo. Observamos que el sexo tiene un impacto significativo sobre la evolución de FGe y proteinuria (**tabla 31**).

Tabla 31. Evolución de FGe (CKD-EPI, ml/min/1,73 m²), albuminuria (UACR, mg/g) y proteinuria (UPCR, mg/g) en función del sexo. Se muestran la situación basal y dos puntos de seguimiento. Resultado expresado como mediana [RIC] o cómo %. El periodo medio de seguimiento medio fue de 7,04±2,65 y el periodo final de 29,77 ± 10,53 meses en hombres y 30,66±11,76 meses en mujeres. Terminaron seguimiento al cerrar el estudio para análisis.

Sexo	Variable	Basal	Medio	Final	P
Hombre	FGe	56,4±2,0	53,6±1,9	53,0±2,2	0,001
Mujer	FGe	50,5±2,6	49,0±2,5	48,4±3,1	0,23
Sexo	Variable	Basal	Medio	Final	P
Hombre	UACR	155,9±23,5	157,4±23,2	150,2±23,6	0,87
	UPCR	384,9±41,8	375,4±40,2	341,7±44,2	0,42
Mujer	UACR	92,8±19,4	72,7±15,2	62,6±13,3	0,019
	UPCR	363,7±53,2	308,0±43,9	217,6±35,8	0,001

Cuando se analizó la pendiente de descenso de FGe y proteinuria en función del sexo, se observó que la albuminuria y la proteinuria solo bajaron de forma significativa en las mujeres (**tabla 32**). Además, el descenso de FGe solo fue significativo en varones.

Tabla 32. Pendiente de evolución de FGe (CKD-EPI, ml/min/1,73 m²/año), albuminuria (UACR, % de cambio/año) y proteinuria (UPCR, % de cambio/año) en función del sexo. Resultado expresado como mediana [RIC]

Sexo	Variable	Pendiente	P
Hombre	FGe	-1,2 [-4,6; 2,3]	0,011
Mujer	FGe	-0,8 [-4,1; 3,5]	0,07
Hombre	UACR	3,1 [-7,3; 20,3]	0,74
	UPCR	-1,5 [-7,4; 9,2]	0,18
Mujer	UACR	-4,8 [-12,9; 7,4]	0,042
	UPCR	-4,7 [-8,8; 0,3]	0,000

2.6. Variables asociadas a la pérdida de FGe en función del sexo

Cuando se evaluaron los factores asociados a la pérdida de función renal en hombres y mujeres se observaron diferencias en los coeficientes ajustados por edad, UACR y FGe por CKD-EPI. Recordemos que un valor positivo del coeficiente indica que valores más altos de la variable se asocian a mejor evolución del FGe.

Los dos sexos compartieron como factor de riesgo de progresión la albuminuria sérica (a mayor albúmina, menor progresión) y el UACR (a mayor UACR, mayor progresión) (**tabla 33**).

Tabla 33: Variables asociadas a la velocidad de pérdida de la función renal en mujeres y hombres. Ajustado por FGe por CKD-EPI, UACR inicial y edad.

Variables	Modelos ajustados Δ FG hombres			Modelos ajustados por Δ FG mujeres		
	Coef,	IC 95%	P	Coef,	(IC 95%)	P
Albúmina (g/dl)	6,388	(2,190; 10,586)	0,003	4,525	(0,253; 8,796)	0,038
UACR (mg/g)	-1,305	(-2,083; -0,527)	0,001	-0,982	(-1,754; 0,210)	0,013

La HTA y TSH sólo predijeron mayor progresión, y la glucosuria menor progresión en varones (**tabla 34**).

Tabla 34: Variables que predicen velocidad de pérdida de función renal en hombres ($p < 0,05$) pero no en mujeres. Ajustado por FGe por CKD-EPI, UACR inicial y edad.

Variables	Modelos ajustados hombre			Modelos ajustados mujer		
	Coef,	IC 95%	p	Coef,	IC 95%	p
Glucosuria	0,01	(0,003; 0,018)	0,006	0,002	(-0,007; 0,011)	0,71
TSH (μ UI/ml)	-3,804	(-6,988; -0,619)	0,02	-0,363	(-1,569; 0,842)	0,55
HTA	-20,359	(-27,81; -12,91)	0,000	-0,795	(-7,450; 5,861)	0,81

La mayor edad, PCRhs y LDH se asociaron a mayor progresión, mientras que el ácido fólico se asoció a menor progresión solo en mujeres (**tabla 35**).

Tabla 35: Variables asociadas a la velocidad de pérdida de función renal en mujeres, pero no en hombres.
Ajustado por FGe por CKD-EPI, UACR inicial y edad. Se muestran valores con $p < 0,05$

Variable	Modelos ajustados hombres			Modelos ajustados mujeres		
	Coef,	IC 95%	p	Coef,	IC 95%	p
Edad (años)	-0,004	(-0,127; 0,119)	0,95	-0,172	(-0,295; -0,049)	0,007
LDH (mg/dl)	-0,006	(-0,022; 0,010)	0,45	-0,014	(-0,026; -0,002)	0,019
PCRhs (ng/ml)	-0,14	(-0,783; 0,502)	0,66	-2,006	(-3,058; -0,953)	0,0001
Ácido fólico (pg/ml)	-0,169	(-0,559; 0,221)	0,39	0,568	(0,287; 0,848)	0,001

Los niveles de PCSK9 se quedaron al borde de la significación estadística ($p = 0,09$) en las mujeres y se asociaron a una mayor velocidad de progresión (Coef: -0,021). La aldosterona se asoció a menor velocidad de progresión (Coef=2,072; $p=0,051$), y la vitamina A (Coef=-5,81; $p=0,09$) y reabsorción tubular de potasio (Coef=-0,25; $p=0,051$), asociados a mayor progresión, quedaron también al borde de la significación en mujeres.

2.7. Variables asociadas a la evolución de la albuminuria en la población general

El análisis univariable identificó una serie de factores asociados a la evolución de la proteinuria, medido como albuminuria, pero no se confirmaron en un análisis ajustado por edad, sexo y FGe por CKD-EPI.

En cierto sentido es una buena noticia: los valores basales explican poca variabilidad de la evolución de la albuminuria, lo que quizá se explica por la eficacia de la intervención terapéutica. Comparamos el tercil superior (pacientes en los que aumentó la albuminuria) con el tercil inferior (pacientes en los que disminuyó la albuminuria) en la población total, en busca de factores que diferencien estas dos poblaciones en el momento basal (**tabla 36**). Para el total de la muestra, los terciles fueron -21,7 y 12,0 mg/g/año de pendiente de UACR por lo tanto compararemos los pacientes en los que la UACR aumentó por encima de 12,0 frente a los pacientes en los que UACR bajó más de -21,7 mg/g/año.

En el análisis ajustado por edad, sexo y FGe por CKD-EPI, la odds ratio superior a 1 quiere

decir que cuanto mayor sea la variable, mayor riesgo de aumento de la UACR > 12 mg/g, mientras que un valor <1 indica un menor riesgo.

Se relacionaron con mayor riesgo de incremento de albuminuria una HbA1C más elevada, así como el tener enfermedad vascular periférica, que podría estar relacionada con la eosinofilia (**tabla 36.a**). El IMC o la TAS más elevado, al comienzo del estudio, así como el sexo mujer o la presencia de arritmia se relacionaron con mejoría de la albuminuria en la evolución (**tabla 36 b**).

Tabla 36: Variables asociadas a la evolución de la albuminuria en la población total. Análisis de OR ajustado para edad, sexo y FGe por CKD-EPI. Sólo se muestran valores con $p < 0,05$

h) Variables relacionadas con aumento de la albuminuria:

Variable	OR	IC 95%	p
Eosinófilos (n/μL)	1.003	(1,001, 1,005)	0,004
HbA1C (%)	1.307	(1,023, 1,692)	0,032
Enfermedad vascular periférica	1.347	(1,026, 1,804)	0,031

i) Variables relacionadas con la disminución de la albuminuria:

Variable	OR	IC 95%	p
IMC (kg/m ²)	0,924	(0,861, 0,988)	0,02
TAS (mmHg)	0,979	(0,960, 0,998)	0,026
Sexo mujer	0,378	(0,179, 0,776)	0,008
Arritmia	0,202	(0,061, 0,569)	0,002

A continuación, se muestra el modelo multivariable (**tabla 37**), en el que se incluyeron sexo y FGe por CKD-EPI, que, en términos estadísticos no aportaron a la hora de diferenciar entre pacientes de primer y tercer tercil. Se asociaron con mejoría de la UACR los valores basales más altos de 1,25 (OH)₂ Vitamina D, T3, y la presencia de arritmia y con peor evolución de UACR los pacientes con valores más altos de eosinófilos, VCM o presencia de SCA.

Tabla 37: Modelo multivariable para predicción de evolución de UACR en la población total.

Variable	Coef.	OR	Int. Conf. 95%	P
Arritmia	-3,278	0,038	0,003-0,328	0,002
Eosinófilos (n/ μ L)	0,006	1,006	1,002-1,011	0,006
1,25 (OH) ₂ Vitamina D (pg/mL)	-0,096	0,909	(0,831-0,982)	0,015
VCM (fl)	0,135	1,145	(1,013-1,333)	0,029
T3 (pg/ml)	-1,077	0,341	(0,110-0,919)	0,033
SCA	2,292	9,89	(1,897-73,90)	0,005
FGe CKD-EPI (ml/min/1,73 m ²)	-0,012	0,988	(0,963-1,013)	0,33
Sexo	-0,037	0,963	(0,242-3,917)	0,96
Constante	-6,632			0,29

Este modelo multivariable se asoció con un área bajo la curva ROC = 0.87 para predecir evolución de UACR (**Figura 3**).

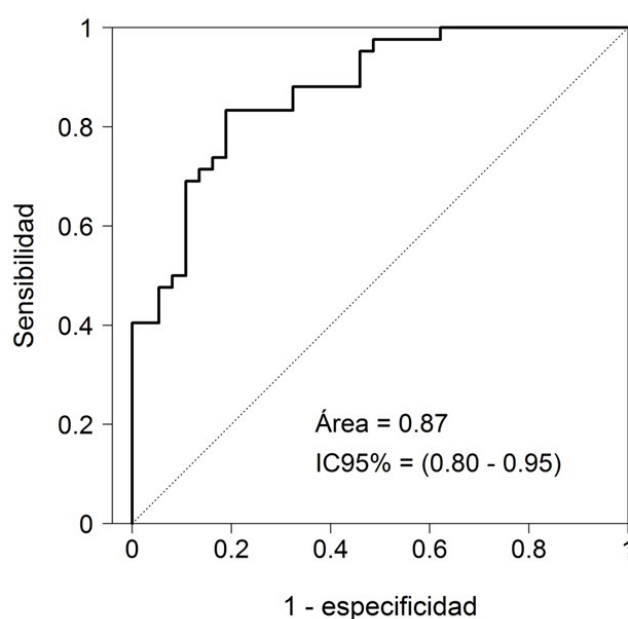


Figura 3: Curva ROC y AUC del modelo multivariable para predecir evolución de la albuminuria en la población total, en concreto para discriminar el tercil superior del inferior en cuanto a progresión de UACR según modelo de tabla 37.

Teniendo en cuenta que la albuminuria no se modificó e incluso se incrementó en varones y que descendió en mujeres, este mismo tipo de análisis se repite para hombres y para mujeres por separado. Para hombres los tertiles fueron -18,6 y 24,9 y para las mujeres -29,4 y 1,4 mg/g/año. En varones se asociaron de forma estadísticamente significativa a un aumento de albuminuria los mayores valores de VCM (**tabla 38 a**). Asimismo, se asociaron a disminución de la UACR los valores más altos de magnesiuuria, potasiuria y PTH, así como la presencia de arritmias (**tabla 38 b**).

Tabla 38: Variables asociadas a la evolución de la albuminuria en varones (terciles de UACR) con $p < 0,05$:

a) Variables asociadas al aumento de albuminuria:

Variable	Modelos ajustados		
	OR	IC 95%	p
VCM (fl)	1,120	(1,026, 1,237)	0,011
FEVI (%)	1,055	(1,000, 1,122)	0,051
EVP	1,386	(0,998, 1,991)	0,052

b) Variables asociadas a la disminución de albuminuria:

Variable	OR	IC 95%	p
FGe CKD-EPI (ml/min/1,73 m ²)	0,984	(0,967, 1,000)	0,052
Mg orina (mg/dl)	0,817	(0,626, 0,995)	0,042
K orina (mEq/L)	0,966	(0,930, 0,999)	0,043
Arritmia	0,056	(0,003, 0,328)	0,000
PTH (pg/ml)	0,993	(0,986, 1,000)	0,039

Si bien en general no hemos valorado las asociaciones entre tratamiento basal con evolución de función renal o albuminuria, dada la posibilidad de confusión por indicación, merece la pena destacar que el tratamiento previo con IECA se relacionó con mejoría de la albuminuria con OR 0,42 (IC 95% 0,18; 0,97; p 0,041), no así el tratamiento con ARA2 que se relacionó con una OR de 3,03 (IC 95% 1,24; 7,85; p 0,015), o sea con una peor evolución de la albuminuria.

El modelo multivariable reflejó un área bajo la curva ROC de 0,89 para la predicción de evolución de UACR en varones e incluyó como variables significativas asociadas a peor evolución de UACR los valores basales más altos de VCM y de eosinófilos y asociados a mejor evolución de UACR se observó una tendencia con los valores más elevados de 1,25 (OH)₂ Vitamina D. (tabla 39).

Tabla 39: Modelo multivariable para predecir evolución de UACR en varones.

Variable	Coef.	OR	(Int. Conf. 95%)	P
VCM (fl)	0,339	1,403	(1,153-1,848)	0,000
1,25 (OH) ₂ Vitamina D (pg/mL)	-0,07	0,933	(0,852-1,005)	0,063
Eosinófilos (n/μL)	0,005	1,005	(1,001-1,010)	0,026
FGe CKD-EPI (ml/min/1,73m ²)	-0,012	0,988	(0,963-1,013)	0,33
Constante	-28,07			0.007

La **figura 4** muestra la curva ROC para predicción de tercil de progresión de UACR en varones este modelo multivariable, con un AUC de 0,89.

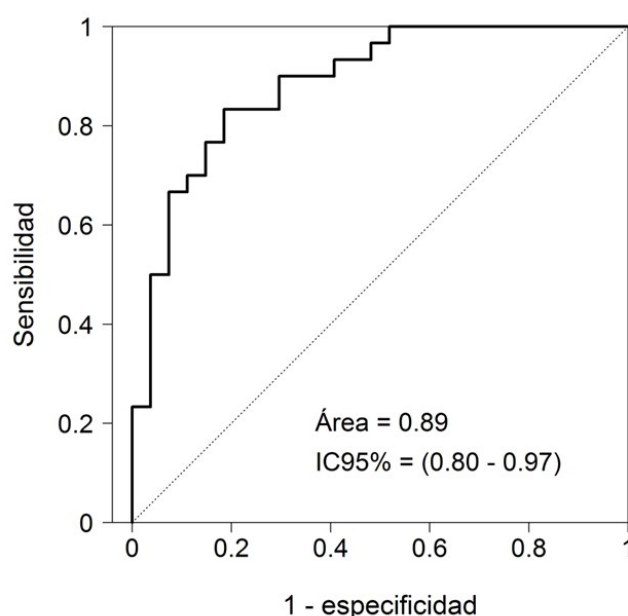


Figura 4: Curva ROC y AUC del modelo multivariable para predecir evolución de la albuminuria (terciles de progresión) en los hombres.

En mujeres se asociaron de forma estadísticamente significativa a un aumento de albuminuria los mayores valores de hierro y TSH (**tabla 40 a**). Asimismo, se asociaron a disminución de la UACR los valores más altos de excreción fraccional de magnesio, perímetro abdominal y TAS inicial (**tabla 40 b**).

Tabla 40: Variables asociadas a evolución de la albuminuria (terciles de UACR) en mujeres con $p < 0,05$.

a) variables asociadas al aumento de albuminuria

	Modelos ajustados		
Variable	OR	IC 95%	p
Hierro ($\mu\text{g/dl}$)	1,027	(1,004, 1,056)	0,020
TSH ($\mu\text{UI/ml}$)	1,428	(1,030, 2,256)	0,028

b) variables asociadas a la disminución de albuminuria

Variable	OR	IC 95%	p
P. abdominal (cm)	0,921	(0,839, 0,995)	0,036
TAS (mmHg)	0,967	(0,931, 0,998)	0,034
EF Mg (%)	0,599	(0,386, 0,851)	0,003

El modelo multivariable reflejó un área bajo la curva ROC de 0,83 para la predicción de evolución de UACR en mujeres (**Figura 5**) e incluyó como variables significativas los valores basales más altos de TSH asociados a peor evolución de UACR y los valores más altos de EF de magnesio y de FGe como asociadas a mejor evolución de UACR (**tabla 41**).

Tabla 41: Modelo multivariable para la predicción de evolución de UACR en mujeres.

Variable	Coef,	OR	Int. Conf. 95%	P
EF Mg (%)	-0,63	0,532	(0,223- 0,772)	0,001
FGe CKD-EPI (ml/min/1,73m^2)	-0,054	0,948	(0,896-0,990)	0,014
TSH ($\mu\text{UI/ml}$)	0,558	1,748	(1,128-3,290)	0,005
Constante	-0,796			

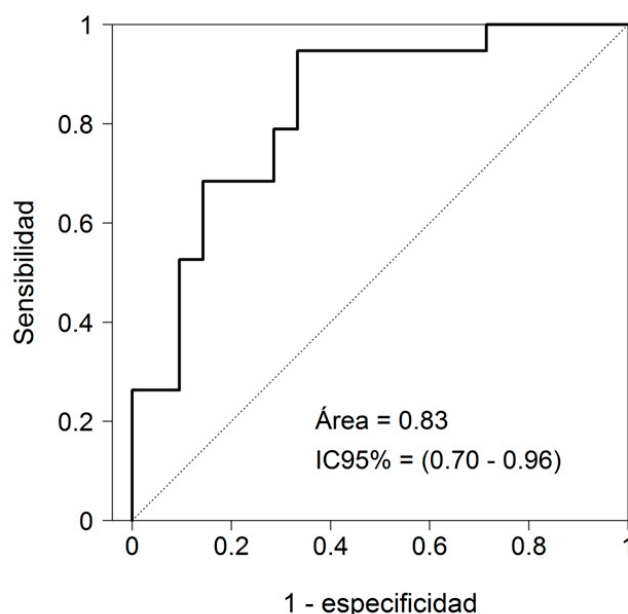


Figura 5: Curva ROC y AUC del modelo multivariable para predecir evolución de la albuminuria en las mujeres.

2.10. Rápidos progresadores

En el global de la población estudiada no se objetivó mayor pérdida de FGe de lo esperable debido a la edad, por ello buscamos factores que permitieran identificar a los rápidos progresadores en la primera consulta. Definimos como rápidos progresadores aquellos cuya pendiente de deterioro de función renal fue superior a $5 \text{ ml/min/1,73m}^2/\text{año}$. Un total de 48 (19%) pacientes cumplieron este criterio sin que se objetivaran diferencias en función del sexo, la edad o el FGe basal. Una vez excluidos los progresadores rápidos, en el resto de la cohorte, el FGe permaneció estable durante el seguimiento. La pendiente media de pérdida de FGe fue de $+0,63 \text{ ml/min/1,73 m}^2/\text{año}$. **La tabla 42** recoge las principales diferencias entre progresadores rápidos y estándar.

Tabla 42: Características de los pacientes según la velocidad de pérdida de FGe. Están representadas diferencias significativas y algunos valores clave.

Variable	N	Progresión rápida N=48	Progresión estándar N=199	P
Edad	247	68,71±12,87	68,26±13,00	0,67
Varones	247	33/48 (69%)	129/199 (65%)	0,61
TAS (mmHg)	247	145±20	135±16	0,004
ADO	247	21/247(8,5%)	120/247(49%)	0,037
% pacientes con bloqueo del SRA (IECA, ARA2 o anti-aldosterónico)	247	44/48 (94%)	184/195 (94%)	0,58
Marcadores de FGe				
FGe CKD-EPI (ml/min/1,73 m ²)	247	57,24±26,57	54,03±25,42	0,38
Pendiente pérdida de FGe CKD-EPI (ml/min/1,73 m ² /año)	247	-9,15±3,88	0,63±3,97	<0,0001
Proteinuria y albuminuria				
Proteinuria (mg/24 h)	232	887 [192-2423]	309 [137-704]	0,001
UPCR (mg/g)	252	781 [184-2028]	297 [132-657]	0,0003
Albuminuria (mg/24 horas)	235	485 [80-1705]	148 [32-397]	0,0003
UACR (mg/g)	247	459 [95-1521]	122 [26-384]	<0,0001

Tabla 42 (continuación):

Otros valores analíticos	N	Progresión rápida N=48	Progresión estándar N=199	P
Ácido fólico (pg/ml)	219	5,76 [4,22-7,52]	7,54 [5,05-10,87]	0,0025
Albúmina (g/dl)	241	3,06±0,44	4,15±0,385	0,0045
Colesterol total (mg/dl)	247	167,49±43,81	154,05±35,7	0,046
Colesterol LDL (mg/dl)	242	91,62±34,64	82,7±28,07	0,06
Triglicéridos (mg/dl)	247	129 [106-185]	119 [86-158]	0,02
sP (mg/dl)	245	3,76±0,54	3,60±0,57	0,07
Mg (mg/dl)	228	1,83±0,29	1,92±0,25	0,0091
25 OH Vitamina D (ng/ml)	241	13,39±7,59	19,14±9,94	<0,0001
HbA1C (%)	247	7,63±1,20	7,59±1,36	0,60
Glucemia (mg/dl)	247	147,54±54,69	142,70±54,42	0,54
Pu(mg/24h)	212	550,14±249,99	641,74±247,43	0,019
Biomarcadores				
CXCL16 (ng/ml)	123	4,23±0,89	3,99±0,88	0,34
PCSK9 (ng/ml)	123	322,9±120,09	311,7±116,1	0,63
GDF11 (ng/ml)	29	45,26 [0-147,66]	28,24 [0-147,6]	0,86
anti-β2 GPI IgA (SAU)	131	0,5 [0-16,9]	0 [0-4,47]	0,24
% de anti-β2 GPI IgA positivo	18	4/20 (20%)	14/115(12%)	0,35

Los rápidos progresadores presentaron valores basales más altos de TAS, proteinuria y albuminuria, colesterol total y triglicéridos y valores más bajos de fósforo urinario en 24 horas, y una tendencia a niveles de fósforo plasmático más altos. Además, presentaron valores más bajos de ácido fólico, albúmina, magnesio y 25 OH vitamina D. Sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativas en el control glicémico.

No observamos diferencias significativas entre rápidos progresadores y pacientes con progresión estándar en los valores de los nuevos biomarcadores, CXCL16, PCSK9, GDF11 y anti β2 GPI IgA.

Las figuras 6-8 muestran gráficamente la relación entre pendiente de FGe y UACR en rápidos progresadores y progresadores estándar en el total de la población y en hombres y mujeres. Cuando se separan los rápidos progresadores la relación entre UACR y pérdida de FG resulta poco llamativa dentro de cada subgrupo tanto en el global de pacientes como en hombres y en mujeres, la relación sólo resulta significativa en los pacientes con progresión estándar. En este sentido, había pacientes con UACR > 1000 mg/g y progresión estándar y pacientes con rápida progresión y UACR < 300 mg/g.

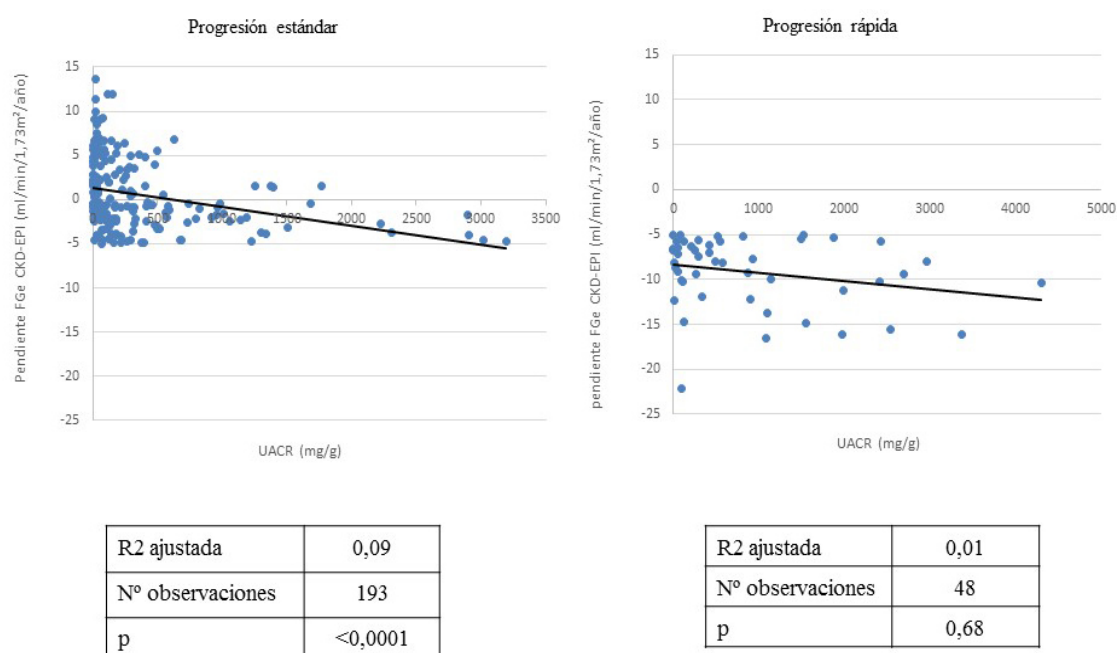


Figura 6. Pendiente progresión estándar y rápida según albuminuria inicial.

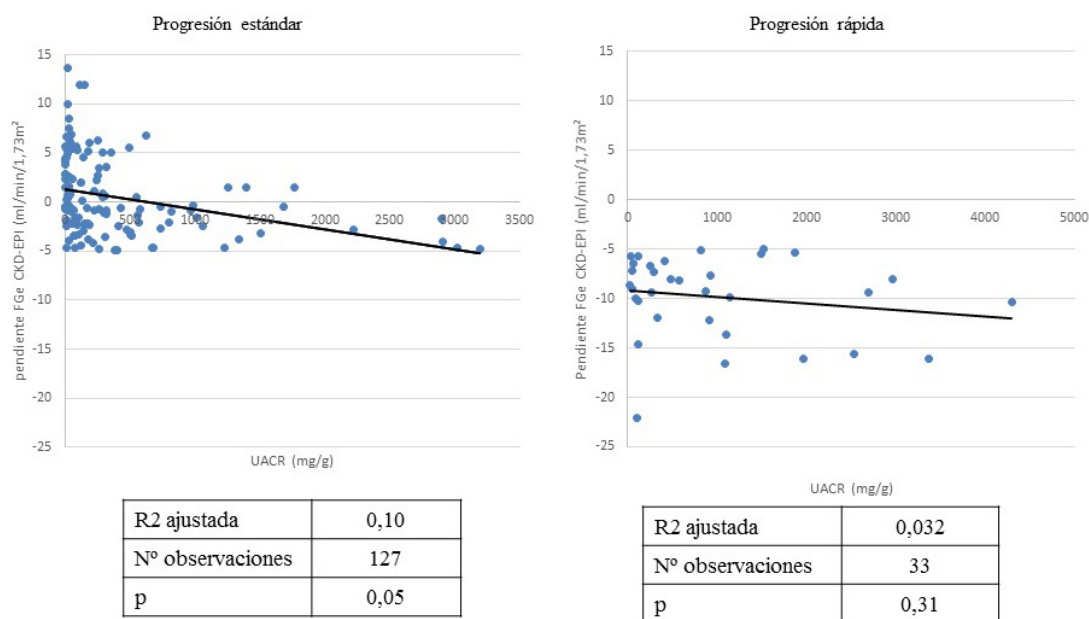


Figura 7. Pendiente progresión estándar y rápida según albuminuria en hombres.

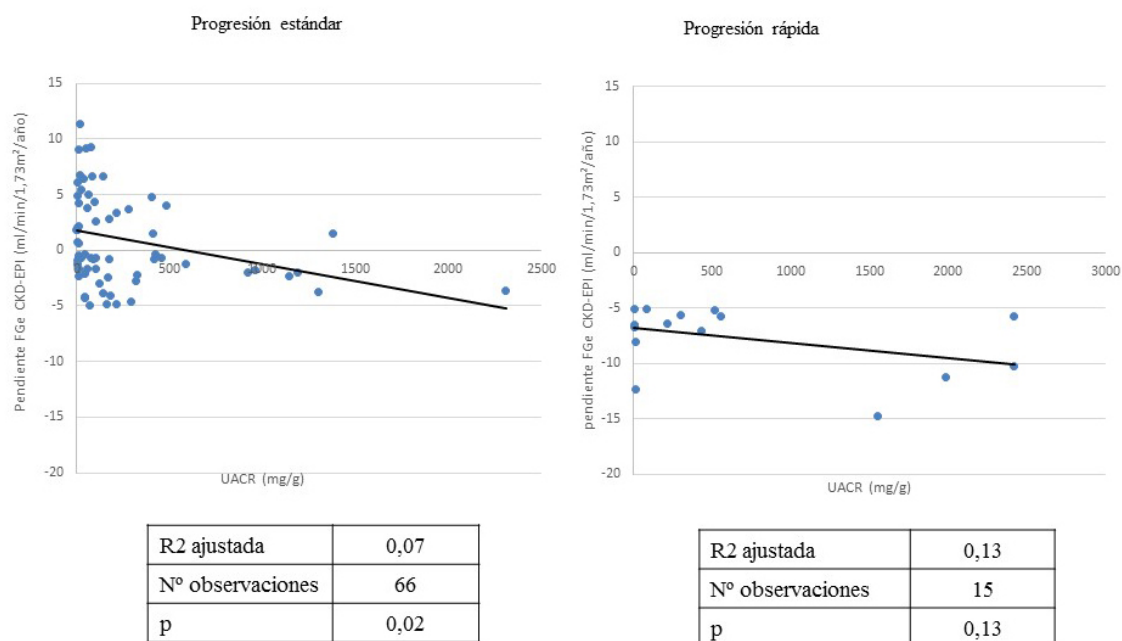


Figura 8: Pendiente progresión estándar y rápida según albuminuria inicial en mujeres.

Analizamos posteriormente la OR para identificar factores de riesgo para rápida progresión en el modelo ajustado por FGe (CKD-EPI), edad y UACR inicial (**tabla 43**).

Tabla 43: Factores de riesgo para progresión rápida en la población total. Análisis multivariable ajustado por edad, FGe CKD-EPI y UACR. Se muestran las variables asociadas a rápida progresión y a progresión estándar. Se muestran las variables con $p \leq 0,05$.

a) Variables asociadas a rápida progresión.

Variable	OR	IC 95%	p
Eosinófilos (n/ μ l)	1,003	(1,001, 1,005)	0,004
EVP	1,347	(1,026, 1,804)	0,031
HbA1C (%)	1,307	(1,023, 1,692)	0,032
VCM (fl)	1,059	(0,999, 1,127)	0,050

b) Variables asociadas a progresión estándar

Variable	OR	IC 95%	p
Arritmia	0,202	(0,061, 0,569)	0,002
Sexo (mujer)	0,378	(0,179, 0,776)	0,008
IMC (kg/m ²)	0,924	(0,861, 0,988)	0,020
TAS (mmHg)	0,979	(0,960, 0,998)	0,026

En los modelos ajustados se asociaron a rápida progresión la presencia de EVP y los valores más altos de eosinófilos, HbA1C y VCM. Se asociaron a progresión estándar la presencia de arritmias, el sexo femenino y los valores más altos de IMC y de TAS.

Con estos datos realizamos un análisis multivariable para identificar las variables que distinguen rápidos progresadores de progresadores estándar en la población diabética con enfermedad renal.

A continuación, se muestran las estimaciones del modelo (**tabla 44**) y la curva ROC (**figura 9**). La inclusión de FGe por CKD-EPI no afectó al resto de covariables, tanto a nivel de la significación estadística como de estimación de coeficientes. Todas las variables identificadas son potencialmente modificables por el tratamiento.

Tabla 44: Modelo multivariable de predicción de progresión rápida en la población total.

Variable	Coef,	OR	(Int, Conf, 95%	P
UACR (mg/g)	0,002	1,002	(1,001 - 1,003)	0,000
EF fosfato (%)	-0,111	0,895	(0,841 - 0,944)	0,000
Triglicéridos (mg/dl)	0,006	1,006	(1,002 - 1,011)	0,006
Ácido úrico (mg/dl)	0,327	1,387	(1,080 – 1,800)	0,010
Vitamina B12 (pg/ml)	0,003	1,003	(1,001 - 1,006)	0,001
Constante	-4,561			

Se asociaron a más rápida progresión los valores basales más altos de UACR, triglicéridos, ácido úrico y vitamina B12 y los valores más bajos de EF de fosfatos.

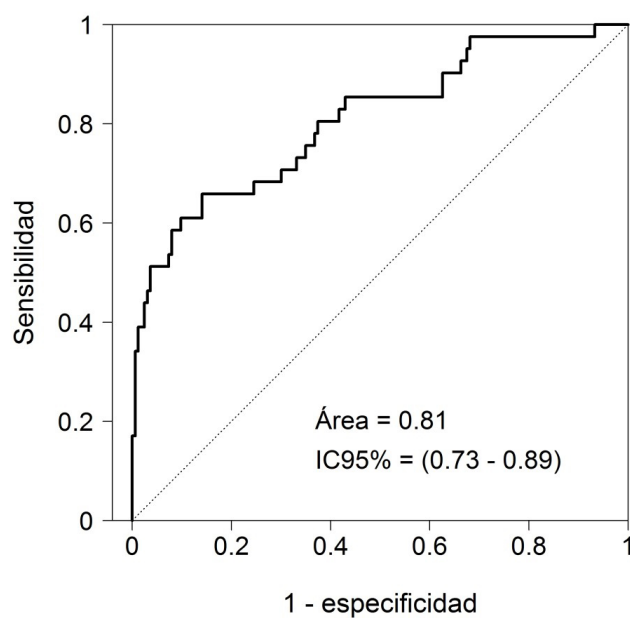


Figura 9: Curva ROC del modelo multivariable de predicción de progresión rápida en la población total.

2.11. Rápidos progresadores en función del sexo

A continuación, se estudiaron los factores asociados a rápida progresión en función del sexo en el análisis univariable ajustado por UACR, edad y FGe basal.

La **tabla 45** muestra las variables que se asociaron a rápida progresión tanto en varones como en mujeres. La **tabla 46** muestra las variables asociadas a rápida progresión sólo en varones y la **tabla 47** las asociadas a progresión sólo en mujeres.

Sólo dos factores se asociaron a progresión rápida tanto en varones como en mujeres: valores más altos de UACR y valores más bajos de 25 OH vitamina D.

Tabla 45. Variables asociadas a progresión rápida en varones y en mujeres. Se muestran valores con $p \leq 0,05$, ajustados por FGe CKD-EPI, edad y UACR.

	Varones modelos ajustados			Mujeres modelos ajustados		
Variable	OR	IC 95%	p	OR	IC 95%	p
25 OH Vitamina D (ng/ml)	0,941	(0,888 - 0,991)	0,021	0,886	(0,782 - 0,970)	0,006
UACR (mg/g)	1,001	(1,001 - 1,002)	0,000	1,001	(1,000 - 1,002)	0,008

Entre los factores asociados a progresión rápida en varones, pero no en mujeres en análisis univariable ajustado, encontramos los valores más elevados de FGe, fosfatasa alcalina, triglicéridos y vitamina B12 (**tabla 46 a**).

Por el contrario, los valores más elevados de albúmina sérica, diuresis, perímetro abdominal, IMC, EF calcio y EF fosfatos se asociaron a progresión estándar (**tabla 46 b**).

Tabla 46 a: Variables asociadas a progresión rápida en varones, pero no en mujeres. Se muestran valores con $p \leq 0,05$, ajustados por FGe CKD-EPI, edad y UACR.

Varones	Modelos ajustados		
	OR	IC 95%	p
FGe CKD-EPI (ml/min/1,73 m ²)	1,024	(1,005 - 1,044)	0,011
FA (UI/ml)	1,017	(1,003 - 1,031)	0,016
Triglicéridos (mg/dl)	1,007	(1,001 - 1,013)	0,019
Vitamina B12 (pg/ml)	1,003	(1,000 - 1,006)	0,024

Tabla 46 b: Variables asociadas a progresión estándar en varones, pero no en mujeres. Se muestran valores con $p \leq 0,05$, ajustados por FGe CKD-EPI, edad y UACR.

Varones	Modelos ajustados		
	OR	IC 95%	p
Albúmina (g/dl)	0,196	(0,051 - 0,710)	0,013
Diuresis (ml/24h)	0,999	(0,998 - 1,000)	0,026
P. abdominal (cm)	0,944	(0,900 - 0,986)	0,008
IMC (kg/m ²)	0,907	(0,821 - 0,991)	0,03
EF Ca (%)	0,364	(0,128 - 0,860)	0,019
EF fosfatos (%)	0,891	(0,818 - 0,958)	0,001

Entre los factores asociados a progresión rápida en mujeres, pero no en varones, en análisis univariable ajustado, encontramos los valores más elevados de leucocitos, mayor edad, PCRhs, mayor TAS al inicio y mayor frecuencia cardiaca, así como los valores más altos de anti- β 2 GPI IgA (**tabla 47 a**).

Por el contrario, los valores más elevados de ácido fólico, EF potasio y EF magnesio se asociaron a progresión estándar (**tabla 47 b**).

Tabla 47 a: Variables asociadas a progresión rápida en mujeres, pero no en varones. Se muestran valores con $p \leq 0,05$, ajustados por FGe CKD-EPI, edad y UACR.

Mujeres	Modelos ajustados		
	OR	IC 95%	p
Anti $\beta 2$ GPI IgA (SAU)	1,034	(1,005 - 1,075)	0,022
Leucocitos (n/ μ L)	1,000	(1,000 - 1,001)	0,032
Edad (años)	1,085	(1,012 - 1,185)	0,019
PCRhs (mg/dl)	3,806	(1,368 - 22,177)	0,004
TAS (mmHg)	1,040	(1,007 - 1,081)	0,016
FC (lpm)	1,067	(1,002 - 1,144)	0,044

Tabla 47 b: Variables asociadas a progresión estándar en mujeres, pero no en varones. Se muestran valores con $p \leq 0,05$, ajustados por FGe CKD-EPI, edad y UACR.

Mujeres	Modelos ajustados		
	OR	IC 95%	p
Ácido fólico (pg/ml)	0,712	(0,520-0,893)	0,001
EF potasio (%)	0,782	(1,099-1,563)	0,001
EF magnesio (%)	0,661	(0,420-0,966)	0,031

Con los datos obtenidos se identificaron modelos multivariantes para hombres y mujeres que predecían rápida progresión.

La tabla 48 muestra el mejor modelo multivariable que representa a los varones, siendo el área bajo la curva ROC de 0,92 (figura 10). Resulta interesante que todas las variables excepto una son potencialmente modificables. Se asociaron a rápida progresión los valores más altos de UACR, vitamina B12, VCM y DDVI así como los valores más bajos de EF fosfatos y perímetro abdominal.

Tabla 48: Modelo multivariable de predicción de progresión rápida en varones.

Variable	Coef,	OR	(Int, Conf, 95%	P
UACR (mg/g)	0,002	1,002	(1,001 - 1,004)	<0,001
EF fosfatos (%)	-0,184	0,832	(0,719- 0,920)	<0,001
P. abdominal (cm)	-0,082	0,921	(0,848 - 0,986)	0,015
Vitamina B12 (pg/ml)	0,006	1,006	(1,002-1,011)	0,005
VCM (fl)	0,210	1,234	(1,032-1,582)	0,018
DDVI (mm)	0,120	1,127	(1,001 – 1,291)	0,047
Constante	-17,44			

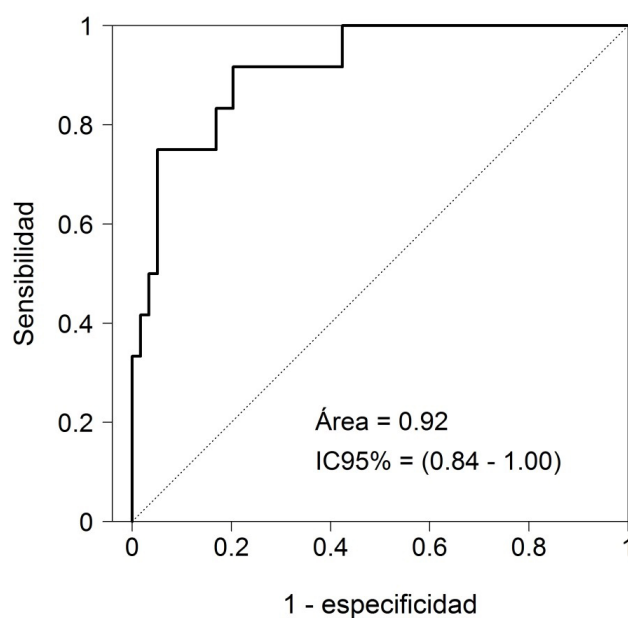


Figura 10: Curva ROC del modelo multivariable de predicción de progresión rápida en varones.

La **tabla 49** muestra el mejor modelo multivariable para identificar el riesgo de alta progresión en mujeres. Se asociaron a progresión rápida los valores más altos de TAS y ácido úrico y los valores más bajos de ácido fólico y EF Mg.

Tabla 49: Modelo multivariable de predicción de progresión rápida en mujeres.

Variable	Coef.	OR	(Int. Conf. 95%)	P
Ácido fólico (pg/ml)	-0,250	0,779	(0,555-0,978)	0,029
TAS (mmHg)	0,075	1,078	(1,029-1,150)	<0.001
EF Mg (%)	-0,447	0,639	(0,391-0,939)	0,020
Ácido úrico (mg/dl)	0,620	1,859	(1,103-3,503)	0,019
Constante	-12,91			

En este caso el área bajo la curva ROC es de 0,90 (**Figura 11**). A destacar tres aspectos:

- a) Todas las variables son potencialmente modificables.
- b) El modelo es diferente al de los hombres
- c) El modelo no incluye UACR.

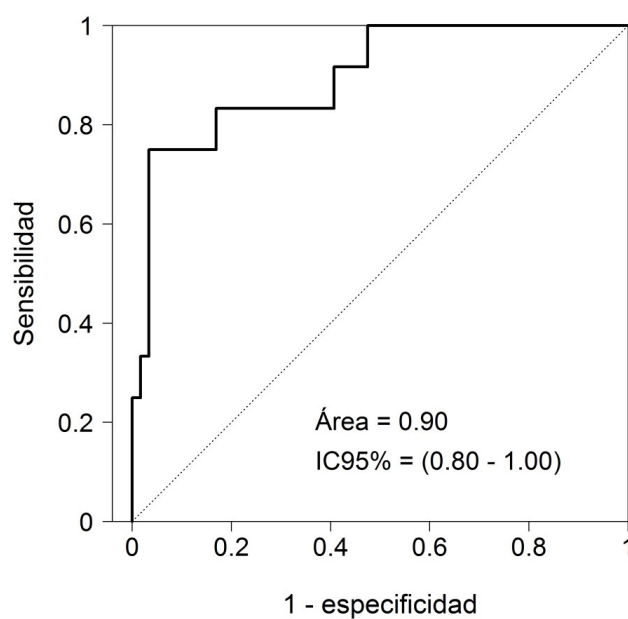


Figura 11: Curva ROC del modelo multivariable de predicción de progresión rápida en mujeres.

Si incluimos UACR en el modelo multivariable para predecir progresión rápida en mujeres, el área bajo la curva se incrementa muy ligeramente a 0.92, pero UACR no es significativo y el ácido fólico deja de serlo. Desde el punto de vista puramente estadístico, la UACR no aporta nada al modelo ya que el área bajo la curva no se incrementa apenas, no es una variable significativa en el modelo, y los coeficientes del resto de variables son muy similares a los obtenidos con el modelo que no incluye UACR (**tabla 50; Figura 12**)

Tabla 50: Modelo multivariable de predicción de progresión rápida en mujeres.

Variable	Coef.	OR	(Int. Conf. 95%)	P
Ácido fólico (pg/ml)	-0,192	0,826	(0,587-0,978)	0,121
TAS (mmHg)	0,078	1,082	(1,030-1,161)	0,000
UACR (mg/g)	0,001	1,001	(1,046-3,521)	0,242
EF Mg (%)	-0,478	0,620	(0,372-0,918)	0,020
Ácido úrico (mg/dl)	0,607	1,835	(1,046-3,521)	0,035
Constante	-14,014			0,009

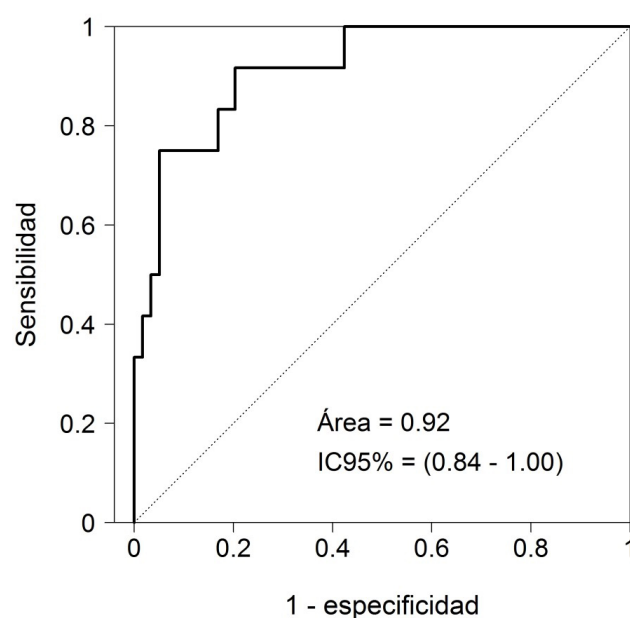


Figura 12: Curva ROC del modelo multivariable de predicción de progresión rápida en mujeres incluyendo UACR (mg/g).

De este modelo se puede eliminar el ácido fólico si no es una variable importante ya que no es significativa. Al eliminarla llegamos al siguiente modelo equivalente en términos de área bajo la curva ROC, siendo de 0,91. En este caso, UACR pasa a ser significativa. Esto sugiere que UACR y ácido fólico podrían estar aportando similar información y el hecho de que sí están las dos desaparece la significación estadística en ambas apunta a relación entre ellas (**tabla 51 y figura 13**).

Tabla 51: Modelo multivariable de predicción de progresión rápida en mujeres eliminando el ácido fólico como predictor.

Variable	Coef.	OR	(Int. Conf. 95%)	P
UACR (mg/g)	0,001	1,001	(1,000-1,003)	0,016
TAS (mmHg)	0,086	1,09	(1,029-1,150)	<0.0001
EF Mg (%)	-0,518	0,596	(0,352-0,890)	0,009
Ácido úrico (mg/dl)	0,638	1,892	(1,098-3,568)	0,022
Constante	-16,96			0,002

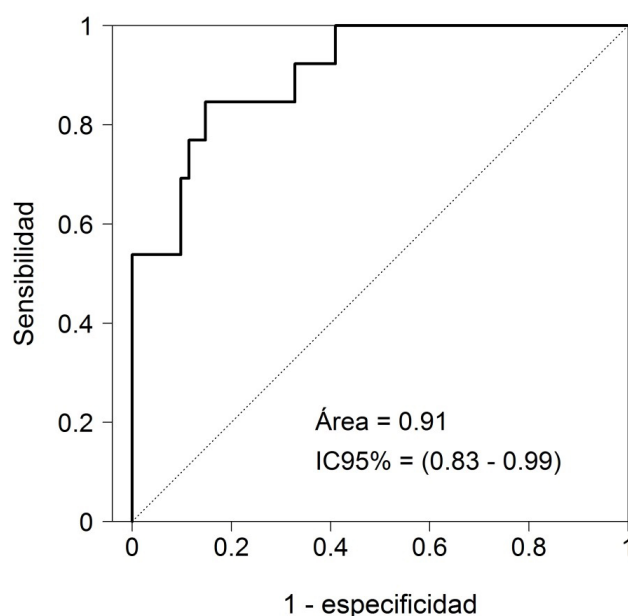


Figura 13: Curva ROC del modelo multivariable de predicción de progresión rápida en mujeres eliminando ácido fólico.

2.12. Valor predictivo de UACR para rápida progresión

Los puntos de corte para definir ERC (FGe <60 ml/min/1,73 m² y UACR >30 mg/g) están asociados a un mayor riesgo de progresión de ERC (61). Además, UACR fue uno de los dos parámetros que se asoció a rápida progresión, tanto en hombres como en mujeres como en la población total. Sin embargo, un porcentaje considerable de pacientes con rápida progresión tenían valores de UACR <30 (12,5%) o <300 mg/g (69%) y un porcentaje considerable de pacientes sin rápida progresión tenía niveles de UACR ≥ 30 mg/g (43%) o ≥ 300 mg/g (29%) (**tabla 52**). De hecho, alrededor del 30 % de rápidas progresadoras tenían UACR >300 mg/g, un porcentaje similar al de los progresadores estándar.

Llamativamente, entre las mujeres hubo un mayor porcentaje de rápidas progresadoras que eran normoalbuminúricas (5/15, 33%) que entre los hombres (1/33, 3%), $p=0,0085$, test exacto de Fisher.

Tabla 52: Distribución de los progresadores rápidos y estándar entre las diferentes categorías de albuminuria en la población total y por sexos.

	Total	Hombres	Mujeres
Rápidos progresadores	48/246 (20%)	33/162 (20%)	15/84 (18%)
UACR <30 mg/g (A1)	6/48 (12,5%)	1/33 (3%)	5/15 (33%)
UACR ≥ 30 mg/g (A2+A3)	42/48 (87,5%)	32/33 (97%)	10/15 (67%)
UACR ≥ 300 mg/g (A3)	15/48 (31%)	12/33 (36%)	3/15 (20%)
Progresadores estándar	198/246 (80%)	129/162 (80%)	69/84 (82%)
UACR <30 mg/g (A1)	111/198 (56%)	73/129 (57%)	38/69 (55%)
UACR ≥ 30 mg/g (A2+A3)	87/198 (43%)	56/129 (43%)	31/69 (45%)
UACR ≥ 300 mg/g (A3)	58/198 (29%)	42/129 (32%)	16/69 (23%)

En este sentido el área bajo la curva ROC de la UACR para predecir rápida progresión fue 0,69 para la población total, 0,71 para hombres y 0,62 para mujeres respectivamente, para puntos de corte de UACR 418, 811 y 213 mg/g respectivamente. (**figuras 14, 15 y 16**). El IC al 95% en

mujeres fue de 0,43 a 0,82, por lo que podemos afirmar que la UACR no es un buen predictor de rápida progresión en mujeres.

En varones el punto de corte que predijo rápida progresión fue en torno a 800 mg/g, lo que sugiere que, en el ámbito del bloqueo del RAS, los valores que predicen rápida progresión son superiores a los puntos de corte tradicionales de 300 mg/g.

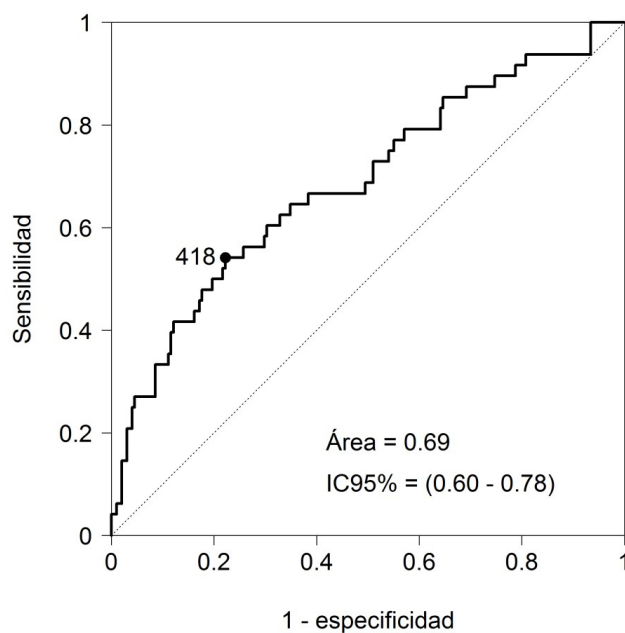


Figura 14: Curva ROC para predicción de rápida progresión en población total.

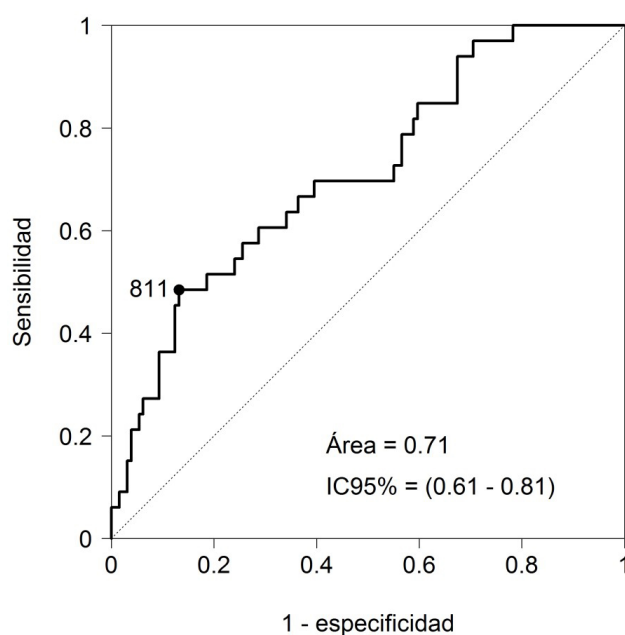


Figura 15: Curva ROC para predicción de rápida progresión en varones.

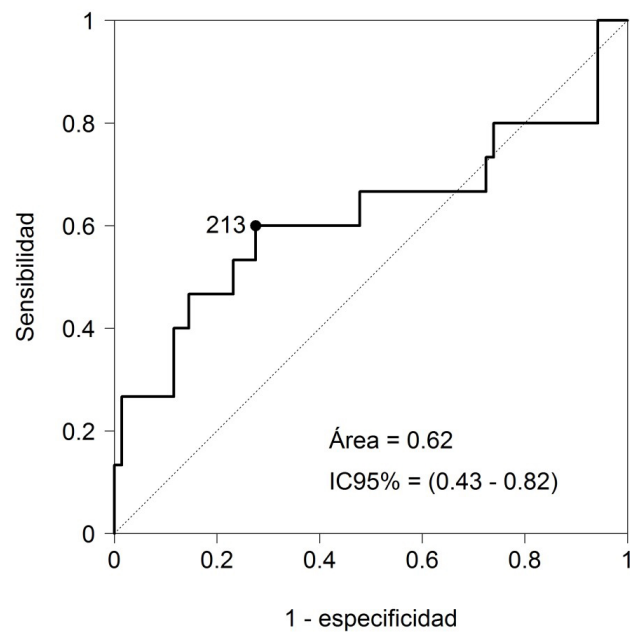


Figura 16: Curva ROC para predicción de rápida progresión en mujeres.

3. Mortalidad

Durante el seguimiento fallecieron un total de 44/261 pacientes (17%), 32/170 (19%) varones y 12/91 (13%), mujeres. A continuación, realizamos un análisis para objetivar las variables asociadas con mortalidad. Se calculó la HR mediante modelos de regresión de Cox ajustados por edad, FGe CKD-EPI y UACR. Las variables no se ajustaron por sí mismas (**tabla 53**).

Entre los factores asociados a mortalidad en el análisis univariable ajustado encontramos la mayor edad, parámetros de inflamación (neutrófilos, PCR), de enfermedad cardiovascular (DDVI, ICC, EVP), PTH y la mayor EF Na (**tabla 53a**). Entre las variables asociadas a menor mortalidad encontramos la mejor función renal, parámetros de mejor estado nutricional (linfocitos, albúmina, prealbúmina y quizá la calcemia), la mayor calciuria y niveles de folato y la FEVI mejor conservada (**tabla 53b**)

Tabla 53: Variables asociadas con mortalidad con $p < 0,05$ tras ajustar por edad, FGe por CKD-EPI y UACR.

a) Variables asociadas con mayor mortalidad.

Variable	HR	IC 95%	p
Neutrófilos (n/ μ L)	1	(1,000 - 1,000)	0,029
Edad (años)	1,039	(1,005 - 1,074)	0,017
PCR hs(mg/dl)	1,262	(1,138 - 1,399)	<0,001
PTH (pg/ml)	1,004	(1,000 - 1,008)	0,042
DDVI (mm)	1,103	(1,038 - 1,171)	0,001
ICC	2,108	(1,062 - 4,187)	0,041
EVP	2,019	(1,074 - 3,795)	0,034
Arritmia	2,232	(1,110 - 4,488)	0,031
EF Na (%)	1,363	(1,020 - 1,821)	0,049

b) Variables asociadas con menor mortalidad.

Variable	HR	IC 95%	p
Linfocitos (n/ μ L)	0,999	(0,999 - 1,000)	<0,001
FGe CKD-EPI	0,98	(0,965 - 0,996)	0,012
Cau (mg/dl)	0,816	(0,674 - 0,988)	0,016
Prealbúmina (mg/dl)	0,932	(0,881 - 0,987)	0,013
Albumina (g/dl)	0,258	(0,114 - 0,585)	0,001
Ca (mg/dl)	0,394	(0,213 - 0,730)	0,004
Ácido fólico (pg/ml)	0,843	(0,746 - 0,954)	0,002
FEVI (%)	0,963	(0,936 - 0,991)	0,016

El sexo femenino se asoció en los modelos ajustados por edad, sexo y FGe (CKD-EPI) con un riesgo de mortalidad 48% menor (HR 0,52, IC al 95% (0,259 - 1,052), al borde de la significación estadística (p= 0,058)

4. Tratamiento sustitutivo de la función renal

Un total de 20/261 pacientes (7,8%) comenzaron tratamiento sustitutivo de la función renal con diálisis, 14/168 (8,3%) hombres y 6/88 (6,8%) mujeres. La **tabla 54** muestra las variables asociadas significativamente a necesidad de tratamiento sustitutivo de la función renal en modelos ajustados para edad, FGe y UACR, con $p \leq 0,05$. Las variables no se ajustaron por sí mismas.

Sólo hubo 5 parámetros basales asociados con la entrada en diálisis: el FGe por CKD-EPI, la albuminuria (UACR), la reabsorción tubular de fosfatos, PCR y prealbúmina. (**Tabla 54**). Se asociaron con un mayor riesgo de necesitar tratamiento renal sustitutivo los valores más altos de UACR y RT de fosfatos, así como los valores más bajos de FGe, PCR y prealbúmina.

Tabla 54: Variables asociadas a necesidad de tratamiento renal sustitutivo en modelos ajustados por FGe CKD-EPI, edad y UACR. Se muestran las variables con $p \leq 0,05$ en la población total.

a) Variables asociadas a mayor riesgo de precisar TRS.

Variable	HR	IC 95%	p
UACR (mg/g)	1,001	(1,000 - 1,001)	0,000
RT fosfatos (%)	1,053	(1,005 - 1,102)	0,014

b) Variables asociadas a menor riesgo de precisar TRS

Variable	HR	IC 95%	p
FGe CKD-EPI (ml/min/1,73 m ²)	0,921	(0,887 - 0,957)	0,000
PCR Hs (mg/l)	0,283	(0,061 - 1,310)	0,032
Prealbúmina (mg/dl)	0,903	(0,833 - 0,979)	0,009

5. Evento combinado

A continuación, definimos una variable de resultados “evento combinado” como muerte o entrada en diálisis. En total 59/261 (22,6%) pacientes tuvieron evento combinado durante el seguimiento. 42/170 (24,7%) de los varones y 17/91 (18,6%) de las mujeres.

En la **tabla 55** se resumen los resultados de los modelos de regresión de Cox univariados ajustados por FGe CKD-EPI, UACR y edad que resultaron significativos con un nivel de significación $p \leq 0,05$.

Entre las variables asociadas a mayor frecuencia de evento combinado encontramos los valores más altos de parámetros de inflamación (monocitos), UACR y LDH, la evidencia de malnutrición (albúmina y prealbúmina bajas), disfunción tiroidea (TSH y T4 alto y T3 baja) y enfermedad CV (ICC, mayor DDVI, menor FEVI y TAD, esta última sugestiva de rigidez arterial).

Llamativamente, la presencia de HTA al inicio se asoció con menor frecuencia de evento combinado. Asimismo, los parámetros de metabolismo mineral, esto es, mayor PTH y FA y menor 25 OH vitamina D y calcemia se asociaron a mayor frecuencia de evento combinado.

Tabla 55: Variables asociadas a evento combinado en modelos ajustados por FGe CKD-EPI, edad y UACR.
Se muestran las variables con $\leq 0,05$ en la población total.

a) Variables asociadas con mayor riesgo de evento combinado.

Variable	HR	IC 95%	p
Monocitos (n/ μ L)	1,001	(1,000 - 1,002)	0,014
PTH (pg/ml)	1,003	(1,000 - 1,006)	0,034
UACR (mg/g)	1,001	(1,000 - 1,001)	0,001
FA (UI/L)	1,007	(1,002 - 1,011)	0,014
LDH (mg/dl)	1,003	(1,001 - 1,005)	0,011
TSH (μ UI/ml)	1,13	(1,065 - 1,200)	0,0001
T4 (ng/dl)	2,935	(1,385 - 6,220)	0,009
DDVI (mm)	1,103	(1,053 - 1,155)	0,0001
ICC	1,903	(1,101 - 3,288)	0,028

b) Variables asociadas con menor riesgo de evento combinado.

Variable	HR	IC 95%	p
25 OH Vitamina D (ng/ml)	0,972	(0,946 - 1,000)	0,038
Ca (mg/dl)	0,453	(0,286 - 0,716)	0,001
FGe CKD-EPI (ml/min/1,73m ²)	0,97	(0,958 - 0,982)	0,001
Prealbúmina (mg/dl)	0,93	(0,892 - 0,969)	0,001
Albúmina (g/dl)	0,438	(0,238 - 0,806)	0,009
T3 (pg/ml)	0,476	(0,273 - 0,831)	0,007
Vitamina A (μg/ml)	0,225	(0,062 - 0,814)	0,02
FEVI (%)	0,968	(0,945 - 0,990)	0,01
TAD (mmHg)	0,978	(0,957 - 0,999)	0,034
HTA	0,269	(0,090 - 0,803)	0,041

Algunos parámetros se quedaron al borde de la significación estadística, como los valores más altos de ácido úrico [HR 1,308; IC 95% (1,152 - 1,484); p 0,056] y de CXCL16 [HR 1,982; IC 95% (0,937 - 2,259); p 0,099].

6. Enfermedad renal crónica en la diabetes del anciano

La ERC y la diabetes afectan con frecuencia a ancianos, pero la enfermedad a edades avanzadas se conoce mal. Al dividir la población en terciles, observamos que el tercil superior (n=89) tienen más de 75,8 años. Las **tablas 56-58** presentan las principales diferencias entre los terciles de edad.

Tabla 56 Características de la población según terciles de edad. Datos expresados como n (%), media \pm DS o mediana [rango intercuartílico]

Terciles de edad (años)	18-63,5	63,6-75,8	75,9-89,7	P
Edad (años)	53,2 \pm 8,8	70,4 \pm 3,7	80,7 \pm 3,1	0,000
Hombres (%)	62/170 (36,5)	52/170 (30,6)	56/170 (32,9)	0,23
Crs (mg/dl)	1,1 \pm 0,7	1,3 \pm 0,7	1,5 \pm 0,8	0,001
FGe CKD-EPI (ml/min/1,73m ²)	68,5 \pm 28,5	53,6 \pm 22,7	42,7 \pm 18,7	0,000
CrCl (ml/min/24h)	77,0 \pm 58,0	58,0 \pm 44,5	44,0 \pm 29,0	0,000
Cru (mg/24h)	1264 \pm 446	1118 \pm 404	984 \pm 285	0,000
UPCR (mg/g)	310 [131-1195]	272 [130-852]	380 [150-727]	0,20
UACR (mg/g)	160 [45-701]	106 [24-561]	183 [31-428]	0,67
PTH (pg/ml)	45,9 \pm 47,1	65,6 \pm 55,8	60,3 \pm 56,6	0,001
25 Vitamina D (ng/ml)	17,0 [10,6-26,6]	15,7 [10,5-24,1]	16,0 [10,6-24,1]	0,69
FGe<60 ml/min/1,73 m ² /UACR<30 mg/g (%)	13,3	44,4	42,2	0,04
FGe<60 ml/min/1,73 m ² /UACR<300 mg/g (%)	13,4	37,1	49,8	0,001
Rápidos progresadores (%)	35,4	33,3	31,2	0,83
Hb (g/dL)	13,93 \pm 1,69	13,34 \pm 1,87	12,85 \pm 1,46	0,001
Ferritina (ng/ml)	119[138,5]	77,5[124,7]	72,0[132,7]	0,054
Transferrina (mg/dl)	250,40 \pm 50,20	260,90 \pm 50,50	236,20 \pm 47,40	0,005
Prealbúmina (mg/dl)	29,76 \pm 7,40	26,57 \pm 6,72	25,99 \pm 7,13	0,004
Cau (mg/24h)	84 [29-162]	48 [27-108]	40 [25-67]	0,004
Pu (mg/24h)	677,9 \pm 263,7	660,6 \pm 277,1	532,1 \pm 191,4	0,007
Nau (mmol/24h)	167,89 \pm 78,52	159,33 \pm 70,74	138,58 \pm 55,96	0,06
Ku (mmol/24h)	69,91 \pm 75,25	66,65 \pm 28,04	57,99 \pm 22,81	0,11

El tercil más anciano difirió en una serie de características de los más jóvenes, destacando una peor función renal y menor masa muscular (creatininuria de 24 horas), sin diferencias en la albuminuria (**tabla 56**). Asimismo, la concentración de diversas proteínas séricas fue menor, probablemente representando una peor nutrición, dado que los valores de albuminuria fueron similares, lo que no justificaría mayores pérdidas urinarias en el anciano. La menor eliminación de calcio y fosfato en orina de 24 horas puede representar menor ingesta, aunque dado que no hubo diferencias significativas en la eliminación de sodio y potasio en 24 horas, también puede representar mayor balance positivo.

No hubo diferencias significativas en el porcentaje de rápidos progresadores entre los distintos terciles de edad. No obstante, hubo diferencias significativas entre el segundo y tercer tercil con respecto al primero en el porcentaje de pacientes con menos albuminuria y peor filtrado glomerular basal (**tabla 56**). El tercil de más edad presentó mayor comorbilidad cardiovascular, mayor TAS, menor TAD y mayor uso de diuréticos, hipotensores y hierro, si bien en el punto de corte estuvo más bien entre el primer y el segundo tercil para diversas variables (tablas 57 y 58).

Tabla 57. Enfermedad cardiovascular y riesgo cardiovascular por terciles de edad. Datos expresados como n (%), excepto TA que se expresa como media±DS.

Terciles de edad (años)	18-63,5	63,5-75,8	75,8-89,7	p
Tabaco				0,000
No fumador	31 (36,0)	36 (41,9)	41 (46,7)	
Fumador	30 (34,9)	14 (16,3)	5 (5,7)	
Ex-fumador	25 (29,1)	36 (41,9)	42 (47,7)	
ECV	20 (23,3)	51 (59,3)	57 (64,0)	0,000
ICC	4 (4,7)	17 (19,8)	21 (23,6)	0,002
SCA	11 (12,8)	25 (29,1)	25 (28,1)	0,018
EVP	11 (12,8)	25 (29,1)	26 (29,2)	0,014
TAS (mmHg)	134±16	138±17	141±20	0,036
TAD (mmHg)	79±10	73±13	68±11	0,000
Septo IV (mm)	9,5±2,0	10,5±2,5	11,0±1,5	0,001

Tabla 58. Uso de medicación según terciles de edad. Datos expresados como n (%).

Terciles de edad (años)	18-63,5	63,5-75,8	75,8-89,7	p
Antialdosterónicos	1 (1,2)	4 (4,7)	10 (11,2)	0,014
Diureticos	41 (47,7)	57 (66,3)	62 (69,7)	0,006
Diuréticos de asa	9 (10,5)	20 (23,3)	25 (28,1)	0,012
Otros hipotensores	53 (61,6)	68 (79,1)	71 (79,8)	0,009
25 OH vitamina D	22 (25,6)	26 (30,2)	37 (41,6)	0,067
Calcitriol	0 (0)	3 (3,5)	8 (9)	0,008
Hierro	15 (17,4)	14 (16,3)	33 (37,1)	0,001

En cuanto al pronóstico, no hubo diferencias significativas en la incidencia de tratamiento renal sustitutivo entre los diferentes grupos de edad ni en la tasa de exitus en los mayores de 64 años (tabla 59).

Tabla 59. Evolución según terciles de edad. Datos expresados como n (%) o mediana y rango intercuartílico.

Terciles de edad (años)	18-63,5	63,6-75,8	75,9-89,7	p
Tratamiento renal sustitutivo	8 (10)	4 (4,6)	8 (8,9)	0,68
Éxitus	6 (7)	20 (23)	18 (20,2)	0,037
Ratio diálisis/éxitus	1,33	0,2	0,44	
ECV de novo	14 (16,5)	23 (27,4)	22 (25,6)	0,20
Pendiente FGe (ml/min/1,73 m ²)	-0,82 [-4,63; 3,66]	0,88 [-4,67;1,05]	-1,5 [-4,24; 1,05]	0,75

7. Marcador proteómico CKD273

Hemos observado que la cohorte evolucionó satisfactoriamente de forma global, pero que hubo un porcentaje de pacientes con rápida evolución que se podrían haber beneficiado de un diagnóstico precoz de la ERC y especialmente de la progresión a ERC. Sin embargo, la UACR, el marcador clásico de riesgo de evolución no fue lo suficientemente informativo, especialmente en mujeres.

El marcador proteómico urinario CKD273 podría ser un biomarcador temprano de ERC y ERC progresiva (24589724), por lo que fue estudiado en un subgrupo de 23 pacientes con DMT2, de los cuales 14 eran casos con ERC (10 varones, edad media 64 ± 12 años, albuminuria 166 ± 218 mg/l, FGe 52 ± 23 ml/min/1,73 m²) y 9 controles sin ERC (5 varones, edad media 63 ± 12 años, albuminuria 8 ± 12 mg/l, FGe 84 ± 18 ml/min/1,73 m²).

Los valores de CKD273 fueron más altos en pacientes con ERC diabéticos que en controles diabéticos (**figura 17**).

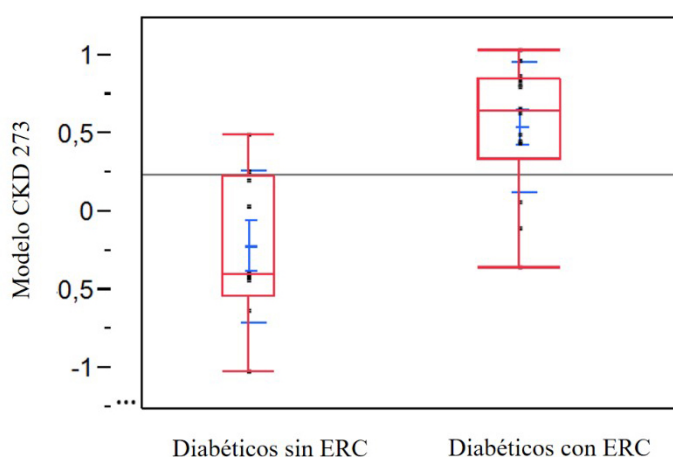


Figura 17. Valores de CKD273 en pacientes con diabetes sin ERC y pacientes con diabetes y ERC. La línea horizontal indica el punto de corte de CKD 273 para diagnóstico de ERC en nuestra cohorte (0,259).

Calculando la sensibilidad y especificidad del marcador proteómico CKD273 y curvas ROC se identificó el punto corte de CKD273 en 0,259, que ofreció la máxima sensibilidad (0,786) y especificidad (0,889) para el diagnóstico de ERC en la diabetes con los valores mínimos de

falsos positivos (0,111) y de falso negativos (0,214) para una AUC de 0,897 (95% IC: 0,771-1,000) (**figura 18**).

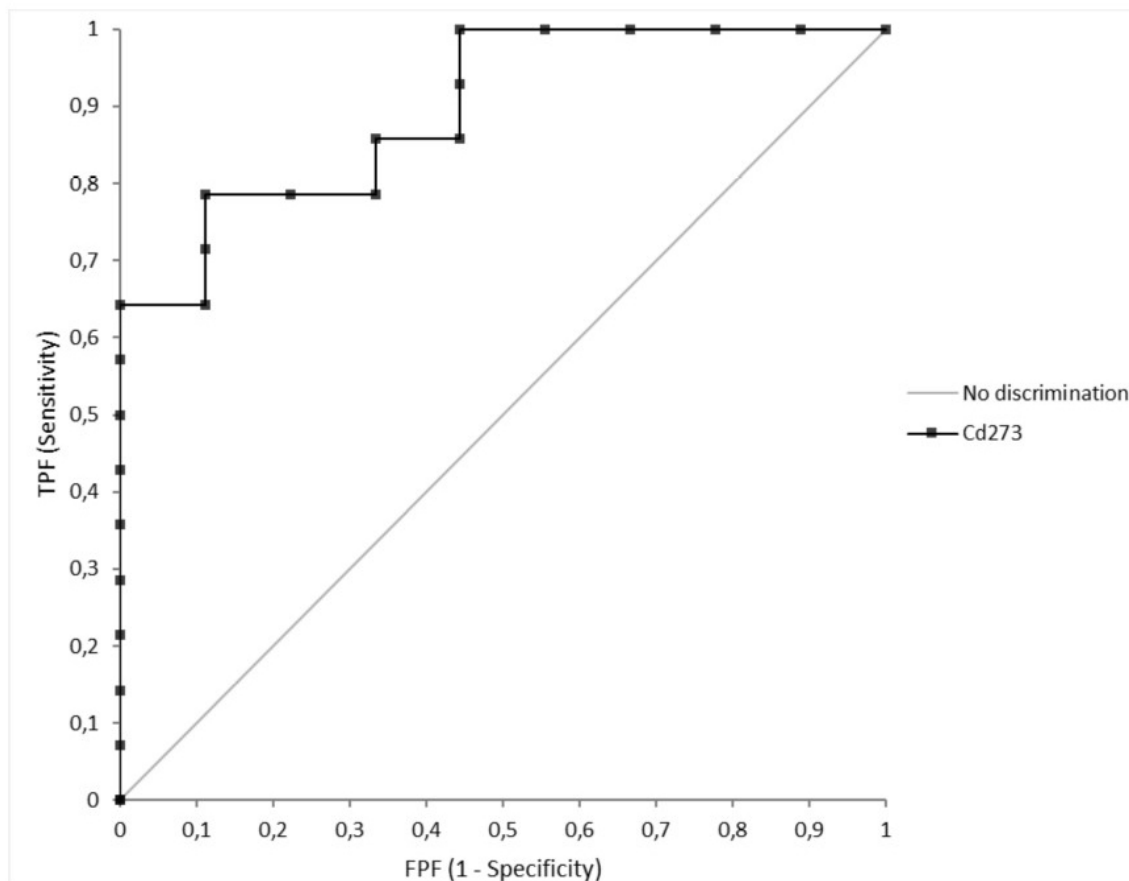


Figura 18. Curva ROC: marcador proteómico urinario CKD273 y diagnóstico de ERC (definida como FGe <60 ml/min/1,73 m²).

Se estudió la distribución de los 273 componentes individuales del marcador CKD273 entre casos (ERC en la diabetes) y controles (diabéticos sin ERC de nuestra cohorte), usando el test de U de Mann–Whitney con un valor $p < 0,05$. A pesar del pequeño número de muestras, se validaron 152 de 273 marcadores identificados en estudios más amplios (197).

Entre los marcadores validados se encuentran 60 fragmentos diferentes de colágeno I $\alpha 1$, 29 fragmentos de colágeno III $\alpha 1$, 18 de $\alpha 1$ antitripsina y 8 de albúmina (**Figura 19**).

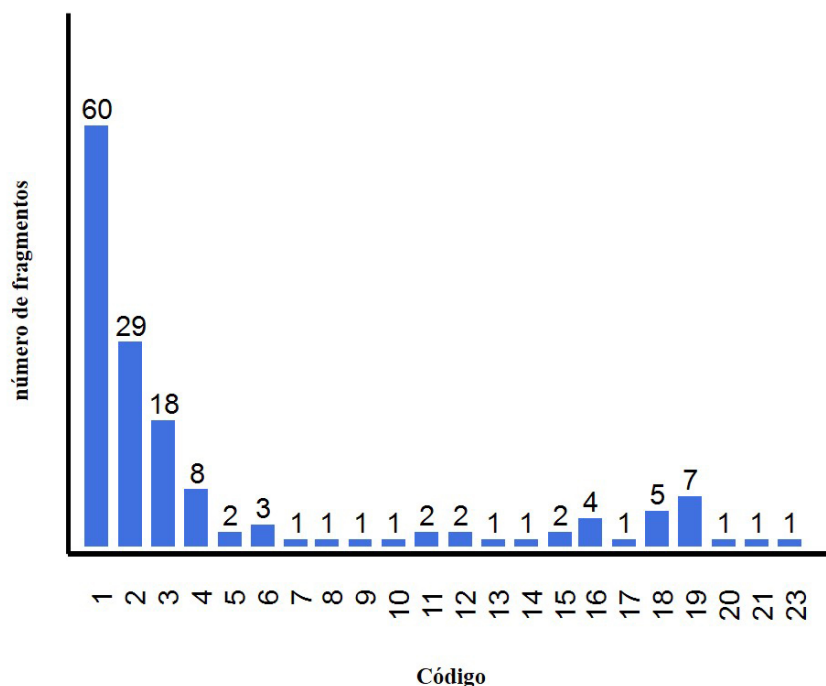


Figura 19. Distribución de los componentes individuales de CKD273 validados en FJD entre diversas proteínas. Las columnas muestran el número de fragmentos individuales de cada una de las proteínas del eje horizontal.

Proteína de Origen	Código	Proteína de Origen	Código
Cadena alfa 1 del colágeno I	1	Uromodulina	16
Cadena alfa 1 del colágeno III	2	ProSAAS	17
Alfa 1 Antitripsina	3	Cadena alfa del fibrinógeno	18
Albumina	4	Cadena alfa 2 del colágeno (1)	19
Prealbumina (TTR)	5	Proteína del gen candidato 2 de susceptibilidad a psoriasis 1	20
Alfa 2 HS glicoproteína	6	Osteopontina	21
Apolipoproteína A-1	7	Regiones de cadena C Ig lambda	22
Colágeno alfa 1(II)	8	Clusterina	23
Beta2 microglobulina	9	Cadena alfa 1 del colágeno (V)	24
CD 99 antígeno	10	Cadena alfa 1 del colágeno (XVII)	25
Sodio/Potasio ATPase cadena G	11	Cadena alfa 2 del colágeno (VIII)	26
R. Componente de membrana asociada a progesterona 1	12	Cadena alfa 1 del colágeno (XVIII)	27
Alfa 1B glicoproteína	13	Proteína neurosecretora VGF	28
Antitrombina 3	14	Cistatina-B	29
Receptor de inmunoglobulina polimérica	15	Prostaglandina-H2 D-isomerasa	30

A pesar del escaso número de pacientes, CKD273 se correlacionó de forma significativa con la albuminuria y existió una fuerte tendencia a una correlación inversa con el FGe (**tabla 60**).

Tabla 60. Correlación de CKD273 con FGe y albuminuria.

	R ² ajustado	P
FGe (ml/min/1,73m ²)	-0,408	0,053
UACR (mg/g)	0,63	0,001

La **figura 20** muestra los valores de FGe según el valor de CKD273 fuera mayor o menor que el punto de corte definido por la curva ROC (0,249). El FGe fue significativamente más bajo en los pacientes con valores de CKD273 ≥ 0.249 (51 \pm 24 vs 77 \pm 20 ml/min/1,73 m², p=0.035).

Entre los pacientes con ERC y diabetes, sólo 3 de los 14 pacientes tenían CKD273 por debajo del punto de corte.

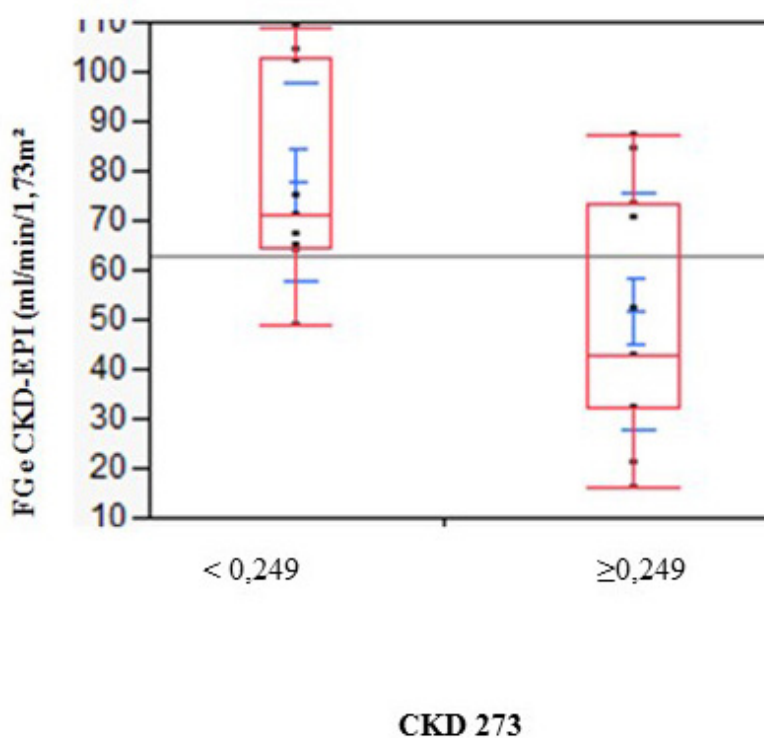


Figura 20. Valores de FGe según el valor de CKD273 fuera mayor o menor que el punto de corte definido por la curva ROC (0,249).

La **figura 21** muestra los valores de UACR según el valor de CKD273 fuera mayor o menor que el punto de corte definido por la curva ROC (0,249). La albuminuria fue significativamente más alta en los pacientes con valores de CKD273 ≥ 0.249 (146.4 [35.99-338.5] vs 4.87 [0.05-163], p 0.041).

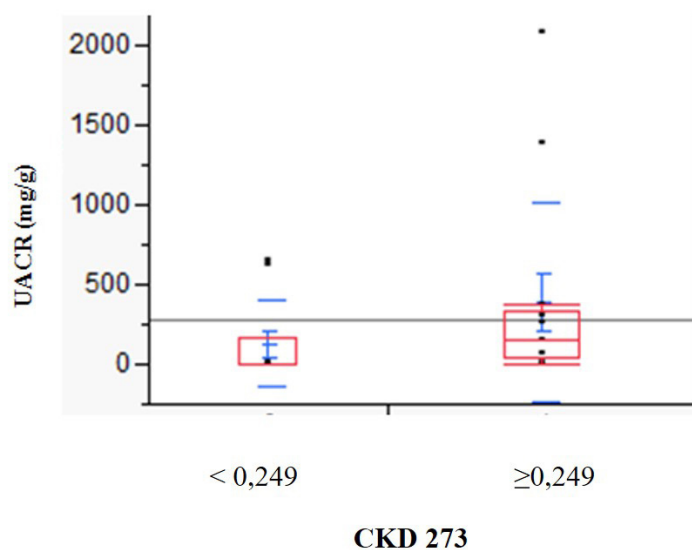


Figura 21: Valores de UACR según el valor de CKD273 fuera mayor o menor que el punto de corte definido por la curva ROC (0,249).

Discusión

Discusión

Los principales hallazgos se pueden resumir como:

1. El tratamiento actual de la ERC en diabéticos se asocia con un buen pronóstico global, con una tasa de pérdida de FGe indistinguible del esperable por la edad ($-1 \text{ ml/min/1,73 m}^2$).
2. Sin embargo, el riesgo de progresión difiere entre hombres y mujeres.
3. A pesar del tratamiento según los últimos avances, hay un grupo de rápidos progresadores. Los factores de riesgo para rápida progresión difieren para hombres y mujeres. En concreto, UACR no es buen marcador de progresión en mujeres. En este sentido CKD273 es un prometedor marcador de progresión que debería testarse específicamente en mujeres.
4. La eficacia del tratamiento según los últimos avances es menor cuando el $\text{FGe} < 30 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ por lo que debemos considerar la remisión más temprana al nefrólogo.

1. La población con ERC y diabetes tiene una evolución favorable con tratamiento

Hemos estudiado una población de pacientes con ERC y diabetes seguidos en una consulta monográfica de un hospital terciario con optimización del tratamiento nefroprotector y protector cardiovascular. La mayoría de los pacientes estaban tratados con bloqueo del SRA (94%), tratamiento con estatinas (83%), antidiabéticos orales (57%) acompañados o no de insulina (65%) y además recibieron otros tratamientos hipotensores (73%) según guías clínicas (60,132) (61,195). Durante el seguimiento se utilizaron estas pautas que, en general mantuvieron a la población con una TA relativamente bien controlada y con cobertura nefroprotectora y protección cardiovascular adecuada. Cabe destacar además que la ingesta de sodio fue relativamente baja, especialmente en las mujeres. A juzgar por la eliminación urinaria de 24 horas las mujeres ingirieron y/o absorbieron menos sodio, potasio, fosfato y magnesio, pero no hubo diferencia entre sexos en el calcio. En estas condiciones, la pendiente de progresión de la ERC medida

como FGe fue similar al reportado en la población general ($-1 \text{ ml/min/1,73 m}^2/\text{año}$), y está en el rango de reportes recientes de ERC en la DM (198). Es más, la mayor parte de esta pérdida de FGe se produjo durante los primeros 6 meses de seguimiento, sugiriendo que, en general, pudo haber un componente funcional, de disminución de la hiperfiltración, relacionado con la optimización del tratamiento. Estos resultados tienen importancia para el diseño de estudios de intervención, destinados a mejorar el tratamiento de los pacientes con ERC y diabetes: en estos estudios es preciso seleccionar a los pacientes con más alto riesgo de progresión, ya que, en pacientes no seleccionados, no se objetiva progresión más allá de la esperada para la edad, por lo que no es teóricamente posible demostrar un beneficio de una intervención terapéutica. En este sentido, un 20% de los varones y un 18% de las mujeres pueden considerarse rápidos progresadores si se usa la definición de pérdida de FGe $>5 \text{ ml/min/1,73 m}^2/\text{año}$ de filtrado glomerular estimado. La identificación de los factores que predicen rápida progresión permitirá enriquecer los ensayos clínicos en este tipo de pacientes.

La pérdida de FGe se concentró en dos categorías de FGe basal: los que tenían FGe $>90 \text{ ml/min/1,73 m}^2$, que perdieron $9 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ durante el seguimiento, aproximadamente -10% del FGe basal; y los que tenían un FGe $<30 \text{ ml/min/1,73 m}^2$, que perdieron 3,5 a $4 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ durante el seguimiento, entre -18 y -27% del FGe basal, dependiendo de la categoría G4 o G5.

Entre los pacientes en categoría G1, la disminución del FGe se produjo fundamentalmente durante el periodo inicial de seguimiento, apoyan la hipótesis de que se trató de una disminución de la hiperfiltración en relación con la intervención terapéutica. En los pacientes basalmente en G2-G3, se produjeron cambios mínimos y no significativos en el FGe. El problema, pues, se centra en G4-G5. Si bien la pérdida absoluta de FGe no fue dramática, especialmente si se prorratea por el periodo de seguimiento, las consecuencias dada la escasa reserva funcional, fueron dramáticas, acercando al paciente a la necesidad de tratamiento sustitutivo de la función renal.

El éxito relativo de la intervención en estadios más tempranos, con tasas de progresión que compararon favorablemente con la pérdida de FGe asociada a la edad descritas en la población

general, sugieren que el momento óptimo de remisión a nefrología podría ser en las categorías de FGe G1-G3. Sin embargo, al ser un estudio observacional, no puede testar esta hipótesis, además, el hecho de que en la categoría G4 la UACR aumentara, apoya que la remisión en esta categoría es tardía y la intervención terapéutica actual en pacientes que ya tienen el SRA bloqueado no permite bajar la UACR. Resulta interesante comprobar también que esta fue la única categoría en la que la albuminuria subió significativamente. Esto pudo deberse a la retirada del bloqueo del SRA por hiperpotasemia o disminución del FGe, un posible factor de confusión que estamos estudiando. Si no se debe a la suspensión del SRA, podría deberse al desarrollo de resistencia al efecto antialbuminúrico de la supresión del SRA. En este sentido, los niveles de aldosterona subieron al bajar el FGe. Una posible interpretación, siempre que no se deba a la suspensión del bloqueo del SRA, es que estos pacientes pudieron requerir y quizá beneficiarse de dosis más elevadas de bloqueantes del SRA. No obstante, todavía estamos analizando el impacto de los cambios concretos del tratamiento durante el seguimiento.

Al tratarse de un estudio observacional, no podemos descartar que la población basalmente G4-G5 representara una muestra enriquecida en rápidos progresadores. En cualquier caso, la tasa de pérdida de FGe incluso en este segmento, compara favorablemente con la pérdida de 10-12 ml/min/1,73 m²/año descrita en la nefropatía diabética no tratada, o sea 10-12 veces más rápido que en la población general, frente a la pendiente observada en nuestro estudio, que es para las categorías G4 –G5 el triple o cuádruple que en la población general.

Al evaluar el impacto de las categorías A sobre la progresión de FGe, observamos que únicamente la categoría A3, independientemente de la categoría G basal, se asoció a una pendiente negativa del FGe. Estos datos apoyan la visión, tradicional, de la nefropatía diabética como una nefropatía proteinúrica y sugieren que, globalmente, los pacientes con UACR residual en categoría A1 o A2 tienen poco riesgo de progresar, destacando la necesidad de encontrar marcadores alternativos que identifiquen los progresadores dentro de las categorías A1 y A2.

El hecho de que la albuminuria y la HTA basales sean factores predictivos de progresión de nefropatía en una población seguida en una consulta monográfica de un hospital terciario ilustra las limitaciones de la medicina actual para mejorar el control de estos parámetros. Es cierto que la inmensa mayoría, si no todos los pacientes habían tenido contacto previo con el sistema

sanitario y la mayoría ya venían recibiendo tratamiento antihipertensivo y nefroprotector. A pesar de esto, tenían basalmente cifras de albuminuria elevada por lo que podrían representar una población seleccionada por el factor de respuesta óptima al tratamiento. Adicionalmente, estos factores pueden representar un aspecto difícilmente evaluable del tratamiento, el cumplimiento por parte de los pacientes de las indicaciones médicas. Finalmente, no podemos descartar completamente la hipótesis de que la presencia de TA y UACR más alta basal sea consecuencia de una lesión renal más grave, destinada a progresar a pesar del tratamiento. Sea cual sea la razón, los datos ilustran el margen existente para mejorar el tratamiento y resultados.

Por tanto, con las herramientas disponibles y/o con su aplicación en la práctica clínica rutinaria, somos incapaces de hacer disminuir más la UACR, de forma global, en pacientes G4, lo que se asocia a una mayor progresión en estos pacientes. Ello sugiere que la remisión del paciente a nefrología se debe hacer antes de llegar a este estadio.

2. La ERC asociada a DM tiene características y evolución diferentes en hombres y en mujeres

En la incidencia y progresión de la enfermedad renal no diabética se ha sugerido un efecto protector del sexo femenino con respecto a los hombres, probablemente relacionado con las hormonas femeninas (199). La protección de las mujeres contra el desarrollo de enfermedad renal no se ha descrito de forma tan clara en la diabetes, y esto se ha atribuido alteraciones en las hormonas sexuales en la diabetes (43,200). De hecho, up-to-date no reconoce al sexo como un factor de riesgo de nefropatía o de su progresión (201). Es más, un metanálisis y revisión sistemática reciente de 10 estudios con datos de 5 millones de participantes describió que el riesgo de ERC asociada con tener DM era de 3,34 (IC al 95% 2,27- 4,93) en mujeres y 2,84 (IC 95% 1,73-4,68) en varones con respecto a no tener diabetes. La diferencia en el riesgo de desarrollar ERC entre hombres y mujeres no fue significativa, con un cociente de riesgo relativo ajustado mujer-hombre de 1,14 (IC 95% 0,97-1,34). Sin embargo, el riesgo para desarrollar ERCA, G5, fue significativamente mayor en mujeres que en hombres diabéticos, con un cociente

de riesgo relativo ajustado mujer-hombre de 1,38 (IC al 95% 1,22-1,55). Los autores concluyen pues, que el sexo femenino podría acelerar la progresión de la ERC en la diabetes (202). No obstante, estos datos representan riesgo relativo con respecto a hombres y mujeres sin DM. Sin embargo, un metanálisis de 318.898 participantes, diabéticos y no diabéticos, mostró un HR para progresión de G3-5 a necesidad de tratamiento renal sustitutivo de 1,37 (IC 95% 1,17-1,62) para hombres respecto a mujeres (203). Es posible que el impacto del sexo sobre el riesgo de ERC en la DM haya evolucionado con el tiempo. En un estudio de DMT1 con edad media basal de 27 años, diagnosticados en 2 etapas diferentes (1950-1964 o 1965-1980), el sexo varón solo se asoció a mayor riesgo de macroalbuminuria o ERC terminal entre los diagnosticados antes de 1965 (50). A nivel global, el estudio GBD del año 2013 estimó que hay más muertes globales por ERC en hombres (525.000 al año) que en mujeres (431.000 al año), pero en la ERC atribuida a la DM la diferencia desaparece (hombres 89.460 y mujeres 83.600), y estimaron menos muertes globales por DM en hombres que en mujeres (619.700 vs 679.700) (204).

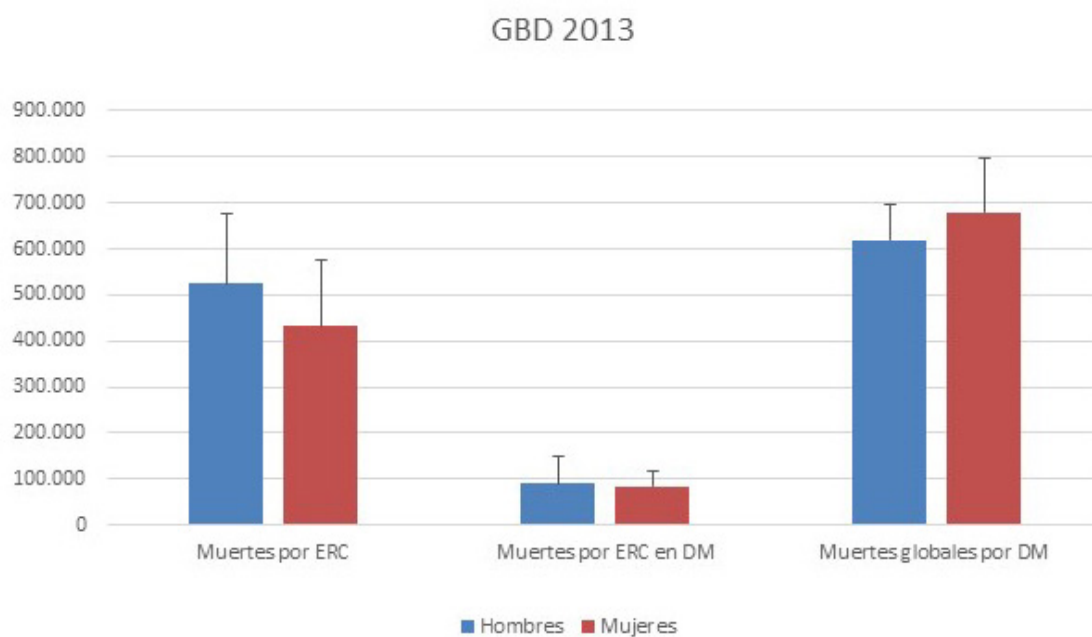


Figura 1: Muertes por ERC en DM según el estudio GBD 2013 en hombres y mujeres.

Otros estudios si mostraron diferencias entre sexos. En una cohorte japonesa de 1802 pacientes diabéticos, el análisis de regresión multivariable por Cox para determinar los predictores de albuminuria mostraron un HR para hombres vs mujeres de 1,69 (1,21–2,35); pero el sexo no fue predictor de deterioro del FGe (205). En el estudio DCCT/EDIC, en población con DMT1, los hombres también tuvieron mayor riesgo de desarrollar albuminuria (206). No obstante, otros estudios han descrito una patocronia diferente para el desarrollo de albuminuria patológica en hombres y mujeres con DMT1: en mujeres la incidencia comienza a subir antes en el curso de la diabetes, pero aumenta más lentamente a lo largo del tiempo que en hombres, de tal forma que, a los 30 años de DM, 85% de hombres y 60 % de mujeres han desarrollado albuminuria patológica (207).

En una cohorte de 4041 pacientes en atención primaria, de características más parecidas a la nuestra (DMT2, 71 años de media de edad y 7,7 años de diabetes), el sexo varón se asoció con deterioro grave de la función renal (208). En otros estudios también se ha observado mayor incidencia de nefropatía diabética en hombres con DMT2 respecto a mujeres (140,209). No obstante, en grandes ensayos clínicos, como el RENAAL, se observó un mayor riesgo de desarrollar ERC terminal en mujeres con respecto a hombres, siendo la mayoría de estas mujeres, post-menopáusicas (55).

En la cohorte multicéntrica italiana RIACE, que estudió la ERC en 15773 sujetos con DM2, la disminución de FGe con normoalbuminuria fue más frecuente en mujeres y la ERC albuminúrica, más frecuente en hombres (210).

En resumen, aunque hay estudios contradictorios, los varones con DM parecen más predispuestos al desarrollo de albuminuria patológica, pero existe más confusión con respecto al impacto sobre la función renal.

En nuestra cohorte:

1. Existen diferencias entre hombres y mujeres con nefropatía diabética en la primera visita. A pesar de la edad media, en torno a los 70 años, que limita el impacto de factores

hormonales, las mujeres presentaron menos albuminuria y aclaramiento de creatinina. En concreto las mujeres presentaron menos albuminuria que los hombres en los estadios G1-G4 y una menor tasa de exfumadoras y de enfermedad vascular periférica y un menor perímetro abdominal a pesar de tener un mayor IMC.

2. Se objetivaron una serie de diferencias en parámetros analíticos entre hombres y mujeres, que resultan llamativas por dos razones:
 - a. La edad media de las mujeres era de 70 años y la mayoría eran menopáusicas (85% tenían > 55 años), por lo que el impacto de las hormonas femeninas estaría disminuido.
 - b. El rango de la normalidad del laboratorio es igual para hombres que para mujeres en prácticamente todos los parámetros (excepto hematocrito, ácido úrico y ferritina). Si las diferencias objetivadas entre hombres y mujeres en nuestra población fueran extensibles a la población general, estos datos sugieren que el rango de la normalidad podría no suponer una superposición de los rangos de la normalidad de los hombres y de las mujeres, por lo que se podrían no detectar valores que serían patológicos en función del sexo.

Entre las variables analíticas las mujeres presentaron cifras más bajas de hemoglobina, saturación de transferrina, prealbúmina y 25OH vitamina D y más elevada de ácido fólico, fosfatasa alcalina y HDL colesterol. Además, la dieta de las mujeres fue diferente a la de los hombres, destacando diferencias en factores que podrían modificar la evolución de la ERC. La ingesta de sodio, fósforo y potasio (estimado por la eliminación urinaria en 24 horas) fue menor, no así la de calcio.

Hombres y mujeres suponen dos poblaciones con diferencias en la expresión y evolución de la nefropatía y de la afectación cardiovascular. Estas diferencias podrían ser explicadas en parte por diferencias genéticas u hormonales, pero no podemos descartar un impacto ambiental ligado al sexo. En este sentido, no objetivamos diferencias entre hombres y mujeres en el control de la diabetes, estimado por la hemoglobina glicosilada, ni en la prevalencia de complicaciones como la retinopatía diabética o neuropatía diabética. Tampoco se objetivaron diferencias significativas

en la prevalencia de HTA o dislipemia, control de la HTA o prevalencia de enfermedad cardiovascular. Es más, el FGe fue similar. No obstante, en los varones es más frecuente un daño autoinfligido en forma de ser fumador o exfumador. Si este fuera un factor contribuyente, es posible que en los próximos años se vea una inversión de la tendencia, asociada al aumento del tabaquismo entre mujeres. Además, la dieta de los hombres fue diferente a la de las mujeres, y, desde el punto de vista renal, hubo una diferencia clara en la magnitud de la albuminuria.

La diferente prevalencia de tabaquismo podría explicar diferencias en la EVP. Es posible que el tabaquismo pudiera influir también en la ERC, y tanto en hombres como en mujeres, los pacientes que nunca habían fumado tenían valores menores de albuminuria en 24 horas, UACR y UPCR que los de aquellos que aún seguían fumando. En el caso de UPCR y albuminuria en 24 horas los valores fueron también menores en los pacientes no fumadores que en aquellos que habían dejado de fumar.

La tendencia a una mayor albuminuria en hombres que en mujeres se observó en prácticamente todas las categorías G de FGe, pero la diferencia fue más llamativa y significativa en las categorías G3b y G4. Las razones no están claras. El 33/34 (97%) y 25/29 (86%) de varones con G3b y G4 y el 21/22 (95%) y 13/15 (87%) de mujeres en estas categorías estaban con bloqueo del SRA por lo que puede representar una respuesta diferente al bloqueo del SRA o una peor optimización de la dosis en varones. En este sentido, el FGe disminuyó significativamente (pendiente $-2,3 \pm 0,45$ ml/min/1,73m²/año), únicamente en la categoría G4 y no hubo diferencias entre hombres y mujeres ($-2,4$ [-4,8; 0,16] vs $-2,0$ [-3,7; 1,8], $p=0,39$, respectivamente. Podría haber diferencias en la respuesta al bloqueo del SRA según el sexo, ya que se ha descrito una regulación del SRA dependiente del sexo que podría estar afectada en pacientes diabéticos (56).

La ingesta de sodio, potasio y fosfato estimada por la excreción urinaria de 24 horas fue también mayor en hombres que en mujeres, especialmente la de sodio (27 mmol al día, 20% mayor) y la de fosfato (149 mg/día, 28% mayor) y hubo menos diferencia en la de potasio (9 mmol/día, 10% mayor). Dado que la ingesta de sodio se relaciona con la proteinuria y el exceso de fosfato puede ser nefrotóxico, estos son factores modificables que pueden contribuir a la mayor albuminuria y progresión de la nefropatía en varones. En este sentido, existió una relación entre UACR y excreción urinaria de sodio en 24 horas significativa (R^2 0,02; $p=0,03$) en hombres,

pero no en mujeres (R^2 0,006; $p=0,46$). No observamos correlación entre fosfaturia y UACR ni en la cohorte general ni en cada sexo por separado, aunque existió una tendencia estadística en la relación entre UACR y fosfaturia en 24 horas en mujeres, R^2 0,04; $p=0,06$.

En análisis ajustados, tanto los hombres como las mujeres comparten como factores de riesgo para la pérdida de función renal, la magnitud de la albuminuria y de la hipoalbuminemia. Si bien la magnitud de la asociación fue menor en mujeres, esto puede deberse al menor número de mujeres en el estudio. No obstante, hemos identificado factores relacionados con el pronóstico renal que pertenecen específicamente a cada sexo.

Tanto en hombres como en mujeres la albúmina sérica fue un parámetro asociado a la progresión de la nefropatía (a menor albúmina sérica, progresión más rápida), incluso en modelos ajustados por UACR. Esto sugiere que la asociación entre albúmina sérica y pérdida de FGe no sólo refleja las pérdidas urinarias. En este sentido, la albúmina sérica podría reflejar el estado nutricional, el estado de inflamación, ya que es un reactante inverso de fase aguda, o una combinación de ambos (síndrome de malnutrición-inflamación) y estos factores también podrían estar relacionados con la pérdida de FGe. En este sentido diversos agentes anti-inflamatorios han demostrado efectos beneficiosos en la ERC de la DM en ensayos clínicos. (84)

2.1 Factores asociados a peor evolución de la función renal en hombres, pero no en mujeres

En hombres, pero no en mujeres, la glucosuria se asoció a mejor evolución y los valores más elevados de TSH y la existencia de HTA a peor evolución.

Ningún paciente estaba con inhibidores de SGLT2, por lo que este no es un factor que explique la asociación de glucosuria con buena evolución. Los varones con glucosuria tuvieron peor control glucémico que los otros varones ($HbA1C$ $8,77\pm1,23$ vs $7,27\pm1,12$; $p<0,001$), lo que hace más sorprendente la asociación de glucosuria con mejor evolución de la función renal. Quizá la presencia de glucosuria pudo asociarse a los mismos beneficios que el uso de iSGLT2 si representara un dintel tubular más bajo, que causara la aparición de glucosuria debido a una

menor actividad espontánea de SGLT2, o si contribuyera a una mayor pérdida urinaria de sodio. Resulta llamativa la asociación de mayores cifras de TSH con progresión en varones, cuando la prevalencia de la patología tiroidea era mayor en las mujeres. Sin embargo, hubo un mayor porcentaje de mujeres con hipotiroidismo tratado y esto podría contribuir a la ausencia de relación de TSH con pérdida de FG en mujeres. Las alteraciones tiroideas se acompañan de cambios en el balance renal de sodio y de la TA en modelos animales (211). En ratas hipotiroideas la menor actividad del cotransportador tipo 3 Na/H (NHE3) bajaría la TA. Además, el hipotiroidismo se ha relacionado con una mayor mortalidad en pacientes en diálisis (212). Se debería estudiar con más detalle la relación entre TSH elevada en varones y peor evolución o en concreto se debería evaluar si varones diabéticos se podrían beneficiar de un menor dintel para prescribir tratamiento sustitutivo con hormona tiroidea. Este es un tema de actualidad, aunque en un estudio reciente publicado en NEJM en 737 adultos de más de 65 años con hipotiroidismo subclínico (TSH 4,6-19,99 mUI/L), el tratamiento sustitutivo con levotiroxina no mejoró los posibles síntomas de hipotiroidismo o astenia. El 53% de los pacientes del estudio eran mujeres (213).

Resulta llamativo que un diagnóstico de HTA sólo se asoció a peor evolución en varones. El estudio de las razones de esta observación podría ayudar a diseñar intervenciones que mejoren el mal pronóstico del varón diabético. Es posible que la mayor ingesta de sal en varones pueda jugar un papel. Resulta también llamativo que en una población tratada la HTA (pero no las cifras de TA) se asocie a mayor velocidad de progresión. Posibles explicaciones pueden ser que la HTA sea secundaria al daño renal, representando un daño renal más grave, por lo que el tratamiento no habría cambiado un hecho fundamental: los riñones están basalmente más dañados independientemente de lo que indiquen los valores de FGe. Como alternativa, las actuales dianas de cifras de TA no son las óptimas.

2.2 Factores asociados a peor evolución de la función renal en mujeres, pero no en hombres

Por el contrario, una serie de factores se asociaron a pérdida más rápida de FGe en mujeres, pero no en hombres. Lamentablemente varios de ellos (edad, PCR o LDH) no son fácilmente

modificables. En mujeres, pero no en hombres, fueron factores de riesgo de progresión los valores más bajos de ácido fólico. Estos resultados son también llamativos, dado que las mujeres tenían, en general, valores más altos de ácido fólico que los varones. Existe la posibilidad de que precisamente la existencia de esos valores más altos permitiera objetivar la influencia del ácido fólico sobre el pronóstico. La comprensión de los mecanismos de esta observación podría aportar novedades terapéuticas. Varios estudios recientes han abordado la relación entre folato y ERC. En adultos hipertensos (The China Stroke Primary Prevention Trial) el uso combinado de 10 mg de enalapril y 0,8 mg de ácido fólico disminuyó significativamente el riesgo de ICTUS con respecto al tratamiento con enalapril solo. El subanálisis realizado en una subcohorte de pacientes con ERC leve a moderada (FGe de 30-60 ml/min/1,73m²) mostró un enlentecimiento en la progresión de ERC en aquellos pacientes tratados con enalapril y folato con respecto a aquellos tratados sólo con enalapril (214).

2.3 Evolución de la albuminuria

También abordamos los factores predictores de la evolución de la albuminuria comparando el tercil de pacientes con menor (disminución) y peor (elevación) evolución de la albuminuria.

En la población total, la HbA1C más alta basal se asoció a peor evolución. Se podría interpretar esta observación como un fracaso terapéutico, ya que es un factor claramente modificable y aun así predijo peor evolución. Existe una explicación alternativa: la memoria metabólica. Es posible que un periodo de mal control glucémico tenga consecuencias incluso después de mejorar el control. En este sentido los estudios a largo plazo sobre el control estricto de la glicemia muestran un enlentecimiento claro de las complicaciones renales y no renales a largo plazo tanto en DMT1 como en DMT2 (122). En DMT1, aquellos pacientes que se encontraban en la rama de control estricto de la glicemia, incluso después de 20 años tras finalizar el ensayo clínico, tuvieron menor incidencia de enfermedad renal que aquellos que se encontraban en la rama de tratamiento standard (123). Otros ensayos como ADVANCE en DMT2 también demuestran que el control intensivo de la glicemia reduce el riesgo de ERC terminal a largo plazo (124).

Otros factores, como EVP y eosinofilia, que se asociaron a peor evolución de la UACR en la población total, están probablemente relacionados, y son difíciles de modificar. Recordemos que ambos fueron más frecuentes en varones y que la eosinofilia es una manifestación del ateroembolismo. Sorprendentemente, un mayor IMC y una mayor TAS basal se asociaron a mejor evolución de la albuminuria. Una posible explicación es que, si estaban alterados en el momento basal, había más margen para la mejora con la intervención terapéutica. Llamativamente, la presencia basal de arritmia también se asoció a mejor evolución de UACR en la población total. Una posible explicación es la mayor frecuencia de arritmias en las mujeres. No obstante, el análisis está ajustado por sexo. De hecho, en el análisis por sexos, la existencia de arritmia se asoció a mejor evolución de albuminuria solo en varones. Finalmente, el sexo también se asoció a mejor evolución de la albuminuria. Estos datos son complementarios de los valores basales de albuminuria y sugieren una mayor reversibilidad de la albuminuria o una mejor respuesta terapéutica en mujeres que en varones.

En mujeres, una mayor TSH se asoció a peor evolución de la albuminuria, mientras que un mayor perímetro abdominal y TAS se asociaron a mejor evolución. Una vez más, éstos son factores potencialmente corregibles. Llamativamente, una mayor EF Mg se asoció a mejor evolución de la albuminuria. Este dato es generador de hipótesis. Una posibilidad es que la mayor EF Mg identifique pacientes con mayor ingesta de Mg. El déficit de magnesio causa disfunción endotelial, inflamación y estrés oxidativo (215). Varios estudios han asociado disminución de la ingesta de magnesio con HTA, ictus o enfermedad arterial (216). El déficit de magnesio se asocia a peor control glicémico y al incremento de albuminuria (215). Otras series en pacientes con enfermedad renal en diabetes han mostrado que el magnesio podría ser un biomarcador de progresión de ERC, hipotetizando que los suplementos de magnesio podrían ser renoprotectores (216).

En resumen, a pesar de los datos contradictorios de la literatura, que, en general, observan menos albuminuria, pero no grandes diferencias en la progresión de la ERC entre hombres y mujeres, en nuestra población hemos observado menos albuminuria y progresión más lenta de ERC en mujeres. Las diferencias con otras series pueden estar determinadas por el tipo de DM estudiada, la edad, la dieta y otras costumbres como la incidencia de tabaquismo y el sistema

sanitario. No obstante, no hubo diferencias entre hombres y mujeres en la incidencia de rápidos progresadores.

3. La UACR no identifica de forma fiable a las mujeres rápidas progresadoras

En el global de la población estudiada, no se objetivó mayor pérdida de FGe de lo esperable debido a la edad. Por ello, buscamos factores que permitieran identificar a los rápidos progresadores en la primera consulta.

Entre los factores asociados a rápida progresión en el conjunto de la muestra, una vez ajustados por FGe, edad y UACR, encontramos valores más altos de UACR, HbA1C, y sexo varón entre otros. La búsqueda de factores predictores de rápida progresión en hombres y en mujeres solo identificó dos factores comunes a ambos sexos: mayor UACR y menor 25OH vitamina D. Estudios en humanos han demostrado que el déficit de vitamina D se asocia con inflamación, disfunción endotelial y enfermedad cardiovascular (157). Los podocitos expresan VDRs y su activación puede disminuir la respuesta inflamatoria ante altos niveles de glucosa u otros factores de stress celular (22,156). Con esta premisa, los tratamientos activadores de VDR, calcitriol y, especialmente paricalcitol, se han probado en ensayos clínicos con un objetivo primario de albuminuria. No obstante, en el estudio en fase III VITAL, no demostró un efecto antiproteinúrico significativo del paricalcitol añadido al tratamiento con inhibidores del SRA, aunque la disminución de la albuminuria estuvo en torno a 15-20% (154). Curiosamente, los pacientes que se beneficiaron de un efecto antiproteinúrico de paricalcitol fueron aquellos con mayor ingesta de sal en la dieta. No obstante, el estudio tuvo graves problemas de diseño que dificultan la interpretación del resultado, ya que muchos, pero no todos los pacientes, tenían una deficiencia de vitamina D nutricional (160). Los resultados del estudio PROCEED, que evaluará el efecto antialbuminúrico de 2 µg al día de paricalcitol en pacientes con alta ingesta de sodio en la dieta nos darán más información (152).

El modelo multivariable con la máxima área bajo la curva ROC para predecir rápida progresión en la población total incluyó UACR, triglicéridos, B12 y EF de fosfatos y uricemia. No obstante, no existió correlación significativa entre UACR y pérdida de FGe en los rápidos progresadores

de cualquier sexo. Existió, aunque débil, en progresadores estándar, enfatizando la necesidad de buscar marcadores de progresión adicionales.

Si bien se podría pensar que algunos factores asociados a rápida progresión eran esperables, como HbA1C, y albuminuria, lo llamativo es que estos valores correspondan a la visita basal. Hubiera sido deseable que la optimización del tratamiento mejorase estos parámetros y como consecuencia de esta mejoría su impacto sobre la pérdida de FGe, pero no fue así. Esto podría estar ilustrando dos fenómenos:

- a)** Las carencias de arsenal terapéutico actual. Esta es la opción consensuada por los expertos, por la que existen múltiples ensayos de nuevos abordajes terapéuticos(84,152).
- b)** Una falta de cumplimiento terapéutico. Como alternativa, podría existir un mal cumplimiento terapéutico que neutralizara cualquier intento de optimización terapéutica. Si bien este aspecto no fue abordado de forma específica en esta tesis, existen publicaciones sobre cumplimiento terapéutico en ERC (217) , en diabetes (218,219) y en ERC en la diabetes (220) que concluyen que la falta de adherencia al tratamiento, tras ajustar por otras covariables, está relacionada significativamente con mayor riesgo de desarrollar ERC. Si este fuera el caso, el abordaje terapéutico para solucionarlo sería radicalmente diferente que si el problema es un armamento terapéutico limitado. El dilucidar la contribución relativa de estos factores debería ser, pues, un área prioritaria de investigación.

Resulta interesante asimismo la asociación de rápida progresión con varios parámetros del metabolismo óseo y mineral, como fosfaturia, hipomagnesemia y déficit de vitamina D. Desde el punto de vista clínico, en el estudio REIN de bloqueo del SRA en pacientes no diabéticos, los niveles séricos de fosfato, incluso dentro del rango normal, se asociaban con falta de respuesta nefroprotectora a IECA (221). En este estudio independientemente del tratamiento con IECA, los pacientes con mayores cifras de fosfato progresaron más rápidamente que aquellos cuyas cifras se encontraban por debajo de la mediana. A destacar que la mediana se encontraba plenamente dentro de los límites de la normalidad (2,7 a 4,6 mg/dl). Nuestros datos van más allá y apuntan al exceso de ingesta y absorción de fosfato como potencial contribuyente a

progresión de nefropatía diabética. En este sentido, en el modelo de predicción de progresión rápida, la excreción fraccional de fosfatos se relacionó con menor progresión, tanto en la población general como en los hombres, no así en las mujeres. La ausencia de relación entre EF de fosfato y progresión en mujeres pudo deberse a una menor ingesta de fosfato en las mujeres con respecto a los hombres. El tema se podría aclarar con un ensayo de quelantes del fósforo con una diana de fosfaturia y como objetivo, enlentecer la progresión de la enfermedad renal.

Llama la atención la tendencia a fosfatemia más alta con fosfaturia significativamente más baja en rápidos progresadores, que sugiere una dificultad para excretar fosfato en orina. Esto puede deberse a la falta de Klotho. En este sentido, la inflamación renal baja Klotho (222) , la proteinuria se ha asociado a niveles de fosfatemia más altos (222) y la respuesta nefroprotectora al bloqueo del SRA no se observa en pacientes con fosfatemia más alta, aún dentro del rango de la normalidad (221).

Los rápidos progresadores son generadores de hipótesis y se deberían reanalizar excluyendo los de G1 ante la posibilidad de que se trate de corrección por hiperfiltración. En este sentido, los factores identificados como asociados a progresión rápida, deberían validarse en otras poblaciones y su posible relación causal evaluarse experimentalmente.

Diversos marcadores de progresión hacían referencia a inflamación (leucocitos, y PCR en mujeres) y vitamina B12 en varones, aunque llama la atención las diferencias entre factores relativos a inflamación entre sexos (223).

Resulta interesante la asociación de anticuerpos anti- β 2 GPI IgA y rápida progresión en mujeres. Esta puede ser una manifestación de autoinmunidad, como el hipotiroidismo, que se ha asociado a peor evolución de función renal en el trasplante renal(119).

El ácido úrico es un factor reconocido asociado a mayor velocidad de progresión de la ERC en la diabetes y hay ensayos clínicos en marcha para abordar si la asociación puede ser causal (152).

4. Interpretación de parámetros de lesión y función renal en hombres y en mujeres

El análisis de los parámetros de función y lesión renal a nivel basal ofrece varios hallazgos que merece la pena comentar. La diferencia en la magnitud de la proteinuria se vio alterada al expresar la proteinuria por gramo de creatinina, una normalización utilizada en la rutina clínica que atribuye de forma excesivamente simplificada una similar excreción urinaria de creatinina en hombres y en mujeres. Así, la utilización de los valores de proteinuria ajustados por creatinina urinaria (UPCR) puede hacer desaparecer las importantes diferencias que se observan entre hombres y mujeres cuando se estudia la proteinuria de 24 horas o incluso la proteinuria en mg/dl. Las diferencias desaparecen tanto por la infraestimación de la proteinuria en varones como por la sobreestimación de la proteinuria en mujeres. Esta atenuación de diferencias en la gravedad de la estimación del grado de daño renal también se objetiva cuando se analiza la albuminuria, aunque en este caso la atenuación de las diferencias no es tan dramática. Esta observación sería esperable que fuera extrapolable a otras nefropatías y, por lo tanto, puede tener impacto para la información pronóstica y para la definición de respuesta al tratamiento. Al usar la normalización para creatinina urinaria y crear una definición “one size fits all” para hombres y mujeres estamos simplificando las definiciones, pero estamos teóricamente sesgando las estimaciones hacia una infraestimación del riesgo (en varones) y sobreestimación del riesgo (en mujeres), a pesar de esto, la UACR no fue un buen predictor de rápida progresión en mujeres. En este sentido habría que reconsiderar la definición de albuminuria como marcador del riesgo de progresión para hombres y mujeres, al menos en el contexto de ERC de la DM en pacientes mayores y tratados según los últimos avances. Efectivamente, si bien el punto de corte de UACR de las curvas ROC que identificó rápidos progresadores en la población total fue 418 mg/g, similar al punto de corte que se usa para definir la categoría A3 (300 mg/g), los valores para varones y para mujeres fueron llamativamente diferentes que el punto de corte A3. En varones fue 811 mg/g, sugiriendo que en presencia de bloqueo del SRA la relación entre UACR y riesgo de progresión varía. Alternativamente, el punto de corte de la población general 300 mg/g, sería un punto de corte “de compromiso” entre hombres y mujeres, sin representar adecuadamente ninguno de

los dos, al menos en el contexto de diabetes y de tratamiento con inhibidores del SRA. Así, en mujeres, el valor predictivo de UACR para rápida progresión fue peor y el punto de corte más bajo (213 mg/g). El área bajo la curva para predecir rápida progresión en mujeres basado en UACR indica que es un predictor no significativamente diferente de “tirar una moneda al aire”. Resulta también llamativo que el FGe en mujeres fue muy similar al aclaramiento de creatinina medido. Sin embargo, en varones el aclaramiento de creatinina medido fue 10 ml/min mayor que el FGe (aproximadamente un 20% de diferencia) y con una desviación mayor. Esto sugiere que un mayor número de hombres que de mujeres tienen una masa muscular mayor que la esperada para su edad o que en varones la secreción tubular de creatinina es mayor. En este sentido, la SD de la creatinina de 24 horas fue casi el doble en hombres que en mujeres.

5. La ERC de los ancianos (>75,8 años) no tiene peor pronóstico que la de los pacientes más jóvenes

La ERC de la DM afecta cada vez más a personas de más edad. Así en nuestra cohorte, 213 pacientes tenían más de 63,5 años (punto de corte del primer tercil de edad). La ERC de la DM tiene diferentes características en las personas más mayores que en las personas más jóvenes. Así en las personas más mayores (>75,8 años, tercil superior), el FGe y la masa muscular son más bajos, sin que existan diferencias significativas en la UACR con respecto a los pacientes de menor edad. Esto podría apoyar la hipótesis de que, en parte de los pacientes diabéticos con deterioro de la función renal, la causa del FGe bajo sería la mayor edad, más que la propia nefropatía diabética.

Otras diferencias, posiblemente asociadas a un menor FGe son los valores más altos de PTH y más bajos de hemoglobina. Además, a las cifras más bajas de Hb puede contribuir una ferritina más baja. Asimismo, la TAS fue más elevada y la TAD más baja. y el septo de VI más grueso todo ello sugestivo de una mayor lesión cardiovascular. De hecho, la enfermedad cardiovascular era más frecuente y entre los más mayores.

En nuestra cohorte, los pacientes de los dos terciles superiores representan a la mayoría de

pacientes con FGe<60 ml/min/1,73m² y UACR<30 mg/g o menor de 300 mg/g, (57/85 pacientes en segundo tercil y 49/89 pacientes en tercer tercil en G3-5 A1-2 vs 19/85 pacientes en segundo tercil y 27/89 pacientes en tercer tercil en G3-5 A3), mientras que la población con mejor filtrado glomerular pero mayor UACR se encuentra en el tercil más joven (13/86 en tercil más joven vs 36/85 y 48/89 en terciles superiores respectivamente en G1-2 A1-2). El porcentaje de rápidos progresadores fue similar en los tres terciles de edad (35,4% vs 33,3% vs 31,2%).

Resulta también interesante abordar las diferencias en función de la edad del abordaje terapéutico a la ERC de la DM. En este sentido, los pacientes más ancianos recibieron con más frecuencia ciertos tratamientos, entre los que destacan diversos tipos de diuréticos. Así, 119/175 (68%) pacientes por encima de 63,5 años precisaron diuréticos, lo que hace surgir dudas sobre la eventual aplicabilidad de los resultados de los ensayos de antagonistas de receptores de endotelina en este rango de edad, en el que están la mayoría de los pacientes con ERC y DM. En efecto, los antagonistas de receptores de la endotelina, incluido el atrasentan, causan retención hidrosalina y favorecen la ICC (166). En este sentido, el ensayo SONAR tiene unos estrictos criterios de inclusión destinados a excluir a los pacientes con tendencia a la retención hidrosalina (224).

Finalmente, el pronóstico de los más mayores (tercil superior, >75,8 años) no fue peor, en términos generales, que entre los más jóvenes. No hubo diferencias entre los tres terciles en la eventual necesidad de tratamiento renal sustitutivo y el punto de corte que marcó diferencia, en mortalidad fue 63,5 años. Tampoco hubo diferencias en la tasa de pérdida de FGe, inicio de tratamiento sustitutivo de la función renal o enfermedad cardiovascular de novo.

6. Malnutrición e inflamación como factores asociados a tratamiento sustitutivo de la función renal y/o muerte

Entre los factores asociados a necesitar tratamiento sustitutivo de la función renal tras ajustar por edad, sexo, y FGe encontramos, como es lógico, un menor FGe basal y además una UACR mayor. Resulta interesante e inexplicable que una mayor inflamación sistémica (PCRhs) se asoció también a mayor probabilidad de necesitar sustitución de la función renal. También se asociaron

con mayor probabilidad de progresión a estadio terminal de ERC los valores más bajos de prealbúmina, que podrían representar malnutrición y una RT fosfato más alta. Una mayor RT de fosfato podría interpretarse como una disfunción de los mecanismos fosfatúricos. El principal sistema regulador de la fosfaturia es el FGF23 y klotho. Los datos son pues compatibles con una deficiencia de klotho, condicionando una resistencia a FGF23. Esta resistencia a FGF23 se ha observado en las nefropatías más proteinúricas (222).

La reciente guía de ERC con FGe (<45 ml/min/ $1,73$ m² en >65 años (225) se centra en la población añosa con ERC. Esta guía está muy enfocada a intentar discernir que paciente tiene más riesgo de necesitar diálisis o de fallecer antes de necesitar diálisis, dada la frecuente comorbilidad y fragilidad a estas edades. La mayoría de los pacientes de esta tesis estaban en esa franja de edad, en la que el FGe medio fue en torno a 50 ml/min/ $1,73$ m², por lo que los datos sobre mortalidad y como predecirla podrían ser aplicados directamente a mejorar esta guía.

Durante el seguimiento fallecieron un 17% de los pacientes: un 19% de los varones y un 13% de las mujeres. De hecho, las mujeres tuvieron menor riesgo de mortalidad que los hombres en los análisis ajustados por edad, UACR y FGe. Otros factores asociados a mortalidad en el análisis univariable ajustado fueron la edad y la inflamación sistémica, el padecer enfermedad cardiovascular, mayores cifras de PTH y mayor EFNa, que podría estar en relación con dieta o tratamientos utilizados en enfermedad cardiovascular como los diuréticos.

Entre las variables asociadas a menor mortalidad encontramos la mejor función renal, parámetros de mejor estado nutricional, medidas tanto en albúmina como prealbúmina y linfocitos, y los valores más altos de ácido fólico.

Estos datos están en concordancia con estudios realizados en mortalidad en población con DMT2. En la serie sueca de 435.369 pacientes con DMT2 seguidos durante casi 5 años, la mortalidad (18%) fue similar a nuestra población. El riesgo de fallecer por cualquier causa fue mayor en los pacientes con peor control glicémico y con mayor severidad de complicaciones renales (226).

Aunque tradicionalmente el riesgo de progresión de enfermedad cardiovascular y muerte es superior en hombres comparado con el riesgo en mujeres, existen estudios realizados en DMT1,

en el que el riesgo de mortalidad por ECV es excepcionalmente elevado en mujeres con DMT1 de comienzo temprano comparadas con hombres y mujeres con DMT2 de comienzo más tardío, lo que apoya el iniciar tratamientos más agresivos tras el diagnóstico de la DM con el fin de prevenir eventos futuros (227). En otros estudios realizados en DMT2 las mujeres diabéticas también tuvieron un mayor riesgo de desarrollar complicaciones cardiovasculares y muerte comparadas con los varones con DMT2, lo que se ha relacionado con un tratamiento menos agresivo de las mujeres que de los hombres (228). En nuestra cohorte hombres y mujeres han recibido el mismo tratamiento, según las guías clínicas que determinan el “estado del arte” en el tratamiento de la ERC en diabetes, con el objetivo de optimizar tanto el control de factores cardiovasculares como de glicemia y la mortalidad fue menor en mujeres. Se necesitan más estudios para valorar si realmente las mujeres se encuentran en mayor perfil de riesgo que los hombres o se trata de diferencias en cuanto al tratamiento y seguimiento en la población femenina (228).

7. El marcador proteómico CKD273 como predictor de ERC en la diabetes

Las deficiencias observadas entre los marcadores habitualmente utilizados (FGe, UACR) para identificar pacientes individuales con alto riesgo de progresión, especialmente en mujeres, hacen necesaria la identificación y validación de nuevos marcadores de progresión, mejor adaptados al estado del arte, en el cual la inmensa mayoría de los pacientes ya tienen instaurado tratamiento antiproteinúrico y que identifiquen pacientes con alto riesgo de progresión incluso entre aquellos sin UACR residual significativa. El biomarcador proteómico CKD273 tiene el potencial para convertirse en uno de estos marcadores (229).

El punto de corte de CKD273 para identificar pacientes con ERC en nuestra pequeña muestra española que fue de 0,259, siendo discretamente diferente del previamente descrito para otras poblaciones europeas (0,343) para discriminar pacientes con ERC o con alto riesgo de progresión de ERC (197). Es más, cuando se separaron los pacientes por el punto de corte identificado en nuestra población, los pacientes con valores más altos de CKD273 tuvieron valores más bajos de FGe y valores más altos de albuminuria, confirmando el potencial de

CKD273 para identificar ERC. Si bien no abordamos directamente la capacidad de CKD273 para identificar los pacientes con alto riesgo de progresión en nuestra muestra, dado el pequeño tamaño muestral, la asociación entre CKD273 y los marcadores de riesgo FGe y albuminuria sugieren que CKD273 podría tener valor como predictor de rápida progresión como ha sido reportado en otras poblaciones (230). En este sentido, alguno de los falsos positivos (CKD273 elevado en diabético sin ERC conocida) podría indicar un alto riesgo de desarrollo futuro de ERC manifestada por UACR>30 mg/g (231).

Tendría interés conocer la evolución a largo plazo de los diabéticos con ERC y falso negativo para CKD273 (valor bajo de CKD273). Existe evidencia de que estos pacientes podrían tener un menor riesgo de pérdida progresiva de función renal (231) pero la n de nuestro estudio no es lo suficientemente grande como para responder a esta pregunta.

En el futuro nos proponemos ampliar la determinación de CKD273 a toda la cohorte con el fin de abordar su potencial para identificar de forma precisa los rápidos progresadores y específicamente los rápidos progresadores con valores de UACR más bajos y las mujeres con alto riesgo de rápida progresión.

8. Debilidades

En el estudio se pueden observar varias debilidades. Se trata de un estudio monocéntrico y las conclusiones podrían no ser aplicables a otras poblaciones o a otros centros con una aproximación terapéutica diferente a la ERC de la DM. Se trata de una población seleccionada por médicos de atención primaria o endocrinólogos para su remisión a nefrología y podrían no ser representativos de la población general con ERC y DM. Dada la heterogeneidad de la presentación clínica de la ERC de causa diabética (con y sin albuminuria patológica, con y sin retinopatía), no se intentó confirmar el diagnóstico etiológico.

Carecemos de cohorte de validación por lo que los modelos multivariados de predicción de evolución deben ser validados en una segunda cohorte.

Finalmente, no se han analizado los cambios en el tratamiento.

9. Fortalezas

Entre las fortalezas destacamos que es un estudio prospectivo con un seguimiento relativamente largo (30 meses) y con biobanco en condiciones de práctica clínica habitual que representa el tipo de pacientes que son remitidos a nefrología, tratados de manera uniforme por el mismo especialista en nefrología. Asimismo, se ha recogido una serie de variables analíticas que no suelen estar disponibles en otros estudios prospectivos de esta naturaleza.

Conclusiones / Conclusions

Conclusiones

1. La evolución global de la función renal de los pacientes con ERC y DM tratados según el “estado del arte” puede considerarse buena, siendo similar a la reportada para la población general.
2. Existen diferencias entre hombres y mujeres, tanto en la magnitud de la albuminuria, como en la prevalencia de otros factores de riesgo y en el pronóstico de la función renal.
3. La albuminuria no es un buen predictor de rápida progresión en mujeres con ERC y DM tratadas con el “estado del arte”. En estas circunstancias, resulta de interés identificar factores predictores de rápida progresión de forma independiente en hombres y en mujeres.
4. La eficacia del tratamiento nefroprotector parecer ser menor en los pacientes con FGe $<30 \text{ ml/min/1,73 m}^2$, por lo que se debe explorar la remisión temprana a nefrología.
5. Se debe profundizar en el estudio de biomarcadores de progresión alternativos como CKD273 y en el análisis de las implicaciones pronosticas y terapéuticas de los predictores de progresión identificados en este estudio.

Conclusions

1. The overall evolution of renal function in patients with DKD treated according to the “state of the art” can be considered as correct, being similar to that reported for the general population.
2. There are differences between men and women in terms of magnitude of albuminuria, prevalence of other risk factors and prognosis of renal function.
3. Albuminuria is not a good predictor of rapid progression in women with DKD treated according the “state of the art”. In these circumstances it is of interest to identify independent predictors of rapid progression in men and women.
4. The efficacy of nephroprotective treatment seems to be lower in patients with $\text{eGFR} < 30 \text{ ml/min/1,73 m}^2$, so as it is worth to explore the early referral to the Nephrology units.
5. The study of alternative biomarkers for determining progression of DKD as CKD273 and the analysis of the prognostic and therapeutic implications of predictors of progression identified in this study should be further explored.

Referencias

Referencias

1. Danaei G, Finucane MM, Lu Y, Singh GM, Cowan MJ, Paciorek CJ, et al. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2•7 million participants. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2011 Jul 2;378(9785):31–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21705069>
2. Fernández Fernández B, Elewa U, Sánchez-Niño MD, Rojas-Rivera JE, Martin-Cleary C, Egido J, et al. 2012 update on diabetic kidney disease: the expanding spectrum, novel pathogenic insights and recent clinical trials. *Minerva Med* [Internet]. 2012 Aug;103(4):219–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22805616>
3. de Boer IH, Rue TC, Hall YN, Heagerty PJ, Weiss NS, Himmelfarb J. Temporal trends in the prevalence of diabetic kidney disease in the United States. *JAMA* [Internet]. 2011 Jun 22;305(24):2532–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21693741>
4. Afkarian M, Sachs MC, Kestenbaum B, Hirsch IB, Tuttle KR, Himmelfarb J, et al. Kidney disease and increased mortality risk in type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2013 Feb;24(2):302–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23362314>
5. Martínez-Castelao A, De Alvaro F, Górriz JL. Epidemiology of diabetic nephropathy in Spain. *Kidney Int Suppl* [Internet]. 2005 Dec;(99):S20-4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16336572>
6. Goday A. [Epidemiology of diabetes and its non-coronary complications]. *Rev Esp Cardiol* [Internet]. 2002 Jun;55(6):657–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12113725>
7. Herman WH, Shahinfar S, Carides GW, Dasbach EJ, Gerth WC, Alexander CM, et al. Losartan reduces the costs associated with diabetic end-stage renal disease: the RENAAL study economic evaluation. *Diabetes Care* [Internet]. 2003 Mar;26(3):683–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12610022>

8. Fernandez Juarez G, Luño J, Barrio V, de Vinuesa SG, Praga M, Goicoechea M, et al. Effect of dual blockade of the renin-angiotensin system on the progression of type 2 diabetic nephropathy: a randomized trial. *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2013 Feb;61(2):211–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22939518>
9. Molitch ME, Steffes M, Sun W, Rutledge B, Cleary P, de Boer IH, et al. Development and progression of renal insufficiency with and without albuminuria in adults with type 1 diabetes in the diabetes control and complications trial and the epidemiology of diabetes interventions and complications study. *Diabetes Care* [Internet]. 2010 Jul;33(7):1536–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20413518>
10. Retnakaran R, Cull CA, Thorne KI, Adler AI, Holman RR, UKPDS Study Group. Risk factors for renal dysfunction in type 2 diabetes: U.K. Prospective Diabetes Study 74. *Diabetes* [Internet]. 2006 Jun;55(6):1832–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16731850>
11. Garg AX, Kiberd BA, Clark WF, Haynes RB, Clase CM. Albuminuria and renal insufficiency prevalence guides population screening: results from the NHANES III. *Kidney Int* [Internet]. 2002 Jun;61(6):2165–75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12028457>
12. Dwyer JP, Parving H-H, Hunsicker LG, Ravid M, Remuzzi G, Lewis JB. Renal Dysfunction in the Presence of Normoalbuminuria in Type 2 Diabetes: Results from the DEMAND Study. *Cardiorenal Med* [Internet]. 2012 Feb;2(1):1–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22493597>
13. Caramori ML, Fioretto P, Mauer M. Low glomerular filtration rate in normoalbuminuric type 1 diabetic patients: an indicator of more advanced glomerular lesions. *Diabetes* [Internet]. 2003 Apr;52(4):1036–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12663477>
14. Dwyer JP, Lewis JB. Nonproteinuric diabetic nephropathy: when diabetics don't read the textbook. *Med Clin North Am* [Internet]. 2013 Jan;97(1):53–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23290729>

15. Ekinici EI, Jerums G, Skene A, Crammer P, Power D, Cheong KY, et al. Renal structure in normoalbuminuric and albuminuric patients with type 2 diabetes and impaired renal function. *Diabetes Care* [Internet]. 2013 Nov;36(11):3620–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23835690>
16. Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, Bilous RW, Cull CA, Holman RR, et al. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kidney Int* [Internet]. 2003 Jan;63(1):225–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12472787>
17. Kussman MJ, Goldstein H, Gleason RE. The clinical course of diabetic nephropathy. *JAMA* [Internet]. 1976 Oct 18;236(16):1861–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/989537>
18. Kramer HJ, Nguyen QD, Curhan G, Hsu C-Y. Renal insufficiency in the absence of albuminuria and retinopathy among adults with type 2 diabetes mellitus. *JAMA* [Internet]. 2003 Jun 25;289(24):3273–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12824208>
19. MacIsaac RJ, Panagiotopoulos S, McNeil KJ, Smith TJ, Tsalamandris C, Hao H, et al. Is nonalbuminuric renal insufficiency in type 2 diabetes related to an increase in intrarenal vascular disease? *Diabetes Care* [Internet]. 2006 Jul;29(7):1560–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16801579>
20. Ficociello LH, Rosolowsky ET, Niewczas MA, Maselli NJ, Weinberg JM, Aschengrau A, et al. High-normal serum uric acid increases risk of early progressive renal function loss in type 1 diabetes: results of a 6-year follow-up. *Diabetes Care* [Internet]. 2010 Jun;33(6):1337–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20332356>
21. Wolkow PP, Niewczas MA, Perkins B, Ficociello LH, Lipinski B, Warram JH, et al. Association of urinary inflammatory markers and renal decline in microalbuminuric type 1 diabetics. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2008 Apr;19(4):789–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18256362>

22. Sanchez-Niño MD, Sanz AB, Lorz C, Gnirke A, Rastaldi MP, Nair V, et al. BASP1 promotes apoptosis in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2010 Apr;21(4):610–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20110383>
23. Perlstein TS, Gumieniak O, Hopkins PN, Murphey LJ, Brown NJ, Williams GH, et al. Uric acid and the state of the intrarenal renin-angiotensin system in humans. *Kidney Int* [Internet]. 2004 Oct;66(4):1465–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15458439>
24. Rosolowsky ET, Ficociello LH, Maselli NJ, Niewczas MA, Binns AL, Roshan B, et al. High-normal serum uric acid is associated with impaired glomerular filtration rate in nonproteinuric patients with type 1 diabetes. *Clin J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2008 May;3(3):706–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18272826>
25. Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, Naicker S, Plattner B, et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet (London, England)* [Internet]. 2013 Jul 20;382(9888):260–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23727169>
26. Martins D, Tareen N, Zadshir A, Pan D, Vargas R, Nissenson A, et al. The association of poverty with the prevalence of albuminuria: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2006 Jun;47(6):965–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16731291>
27. Palmer AJ, Valentine WJ, Chen R, Mehin N, Gabriel S, Bregman B, et al. A health economic analysis of screening and optimal treatment of nephropathy in patients with type 2 diabetes and hypertension in the USA. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2008 Apr;23(4):1216–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18359872>
28. Macisaac RJ, Ekinci EI, Jerums G. Markers of and risk factors for the development and progression of diabetic kidney disease. *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2014 Feb;63(2 Suppl 2):S39–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24461729>
29. Clustering of long-term complications in families with diabetes in the diabetes control and complications trial. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group.

Diabetes [Internet]. 1997 Nov;46(11):1829–39. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9356033>

30. Quinn M, Angelico MC, Warram JH, Krolewski AS. Familial factors determine the development of diabetic nephropathy in patients with IDDM. *Diabetologia* [Internet]. 1996 Aug;39(8):940–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8858216>

31. Seaquist ER, Goetz FC, Rich S, Barbosa J. Familial clustering of diabetic kidney disease. Evidence for genetic susceptibility to diabetic nephropathy. *N Engl J Med* [Internet]. 1989 May 4;320(18):1161–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2710189>

32. Trevisan R, Viberti G. Genetic factors in the development of diabetic nephropathy. *J Lab Clin Med* [Internet]. 1995 Oct;126(4):342–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7561441>

33. Pettersson-Fernholm K, Fröjdö S, Fagerudd J, Thomas MC, Forsblom C, Wessman M, et al. The AT2 gene may have a gender-specific effect on kidney function and pulse pressure in type I diabetic patients. *Kidney Int* [Internet]. 2006 May;69(10):1880–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16598200>

34. Kunz R, Bork JP, Fritsche L, Ringel J, Sharma AM. Association between the angiotensin-converting enzyme-insertion/deletion polymorphism and diabetic nephropathy: a methodologic appraisal and systematic review. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 1998 Sep;9(9):1653–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9727374>

35. Genovese G, Friedman DJ, Ross MD, Lecordier L, Uzureau P, Freedman BI, et al. Association of trypanolytic ApoL1 variants with kidney disease in African Americans. *Science* [Internet]. 2010 Aug 13;329(5993):841–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20647424>

36. Pezzolesi MG, Poznik GD, Mychaleckyj JC, Paterson AD, Barati MT, Klein JB, et al. Genome-wide association scan for diabetic nephropathy susceptibility genes in type 1 diabetes.

Diabetes [Internet]. 2009 Jun;58(6):1403–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19252134>

37. Kohler KA, McClellan WM, Ziemer DC, Kleinbaum DG, Boring JR. Risk factors for microalbuminuria in black americans with newly diagnosed type 2 diabetes. *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2000 Nov;36(5):903–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11054346>

38. Sinha SK, Shaheen M, Rajavashisth TB, Pan D, Norris KC, Nicholas SB. Association of race/ethnicity, inflammation, and albuminuria in patients with diabetes and early chronic kidney disease. *Diabetes Care* [Internet]. 2014 Apr;37(4):1060–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24550221>

39. Tapp RJ, Shaw JE, Zimmet PZ, Balkau B, Chadban SJ, Tonkin AM, et al. Albuminuria is evident in the early stages of diabetes onset: results from the Australian Diabetes, Obesity, and Lifestyle Study (AusDiab). *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2004 Nov;44(5):792–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15492944>

40. Pavkov ME, Knowler WC, Bennett PH, Looker HC, Krakoff J, Nelson RG. Increasing incidence of proteinuria and declining incidence of end-stage renal disease in diabetic Pima Indians. *Kidney Int* [Internet]. 2006 Nov;70(10):1840–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17003816>

41. Finne P, Reunanen A, Stenman S, Groop P-H, Grönhagen-Riska C. Incidence of end-stage renal disease in patients with type 1 diabetes. *JAMA* [Internet]. 2005 Oct 12;294(14):1782–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16219881>

42. El-Osta A, Brasacchio D, Yao D, Pocai A, Jones PL, Roeder RG, et al. Transient high glucose causes persistent epigenetic changes and altered gene expression during subsequent normoglycemia. *J Exp Med* [Internet]. 2008 Sep 29;205(10):2409–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18809715>

43. Maric C. Sex, diabetes and the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* [Internet]. 2009

Apr;296(4):F680-8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19144692>

44. de Pablos-Velasco P, Martínez-Martín FJ, Rodríguez Pérez F, Urioste LM, García Robles R. Prevalence, awareness, treatment and control of hypertension in a Canarian population. Relationship with glucose tolerance categories. The Guía Study. *J Hypertens* [Internet]. 2002 Oct;20(10):1965–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12359974>

45. Shen Y, Cai R, Sun J, Dong X, Huang R, Tian S, et al. Diabetes mellitus as a risk factor for incident chronic kidney disease and end-stage renal disease in women compared with men: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine* [Internet]. 2017 Jan;55(1):66–76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27477292>

46. Ravid M, Brosh D, Ravid-Safran D, Levy Z, Rachmani R. Main risk factors for nephropathy in type 2 diabetes mellitus are plasma cholesterol levels, mean blood pressure, and hyperglycemia. *Arch Intern Med* [Internet]. 1998 May 11;158(9):998–1004. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9588433>

47. Parving HH, Gall MA, Skøtt P, Jørgensen HE, Løkkegaard H, Jørgensen F, et al. Prevalence and causes of albuminuria in non-insulin-dependent diabetic patients. *Kidney Int* [Internet]. 1992 Apr;41(4):758–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1513098>

48. Raile K, Galler A, Hofer S, Herbst A, Dunstheimer D, Busch P, et al. Diabetic nephropathy in 27,805 children, adolescents, and adults with type 1 diabetes: effect of diabetes duration, A1C, hypertension, dyslipidemia, diabetes onset, and sex. *Diabetes Care* [Internet]. 2007 Oct;30(10):2523–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17630266>

49. Villar G, García Y, Goicolea I, Vázquez JA. Determinants of development of microalbuminuria in normotensive patients with type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Metab* [Internet]. 1999 Sep;25(3):246–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10499194>

50. Costacou T, Fried L, Ellis D, Orchard TJ. Sex differences in the development of kidney disease in individuals with type 1 diabetes mellitus: a contemporary analysis. *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2011 Oct;58(4):565–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21840097>

51. Gouni-Berthold I, Berthold HK, Mantzoros CS, Böhm M, Krone W. Sex disparities in the treatment and control of cardiovascular risk factors in type 2 diabetes. *Diabetes Care* [Internet]. 2008 Jul;31(7):1389–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18375411>
52. Dixon A, Maric C. 17beta-Estradiol attenuates diabetic kidney disease by regulating extracellular matrix and transforming growth factor-beta protein expression and signaling. *Am J Physiol Renal Physiol* [Internet]. 2007 Nov;293(5):F1678-90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17686959>
53. Catanuto P, Doublier S, Lupia E, Fornoni A, Berho M, Karl M, et al. 17 beta-estradiol and tamoxifen upregulate estrogen receptor beta expression and control podocyte signaling pathways in a model of type 2 diabetes. *Kidney Int* [Internet]. 2009 Jun;75(11):1194–201. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19279558>
54. Cherney DZI, Sochett EB, Miller JA. Gender differences in renal responses to hyperglycemia and angiotensin-converting enzyme inhibition in diabetes. *Kidney Int* [Internet]. 2005 Oct;68(4):1722–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16164648>
55. Keane WF, Brenner BM, de Zeeuw D, Grunfeld J-P, McGill J, Mitch WE, et al. The risk of developing end-stage renal disease in patients with type 2 diabetes and nephropathy: the RENAAL study. *Kidney Int* [Internet]. 2003 Apr;63(4):1499–507. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12631367>
56. Clotet S, Riera M, Pascual J, Soler MJ. RAS and sex differences in diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* [Internet]. 2016 Mar 9;ajprenal.00292.2015. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26962103>
57. Szekacs B, Vajo Z, Varbiro S, Kakucs R, Vaslaki L, Acs N, et al. Postmenopausal hormone replacement improves proteinuria and impaired creatinine clearance in type 2 diabetes mellitus and hypertension. *BJOG* [Internet]. 2000 Aug [cited 2017 Apr 23];107(8):1017–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10955435>
58. Xu Y, Lin J, Wang S, Xiong J, Zhu Q. Combined estrogen replacement therapy on metabolic control in postmenopausal women with diabetes mellitus. *Kaohsiung J Med Sci* [Internet]. 2014 Jul;30(7):350–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24924841>

59. Earle K, Viberti GC. Familial, hemodynamic and metabolic factors in the predisposition to diabetic kidney disease. *Kidney Int* [Internet]. 1994 Feb;45(2):434–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8164430>
60. Standards of Medical Care in Diabetes-2016: Summary of Revisions. *Diabetes Care* [Internet]. 2016 Jan;39 Suppl 1:S4-5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26696680>
61. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. 2013 [cited 2017 Apr 23];3(1). Available from: <http://www.kidney-international.org>
62. Rudberg S, Persson B, Dahlquist G. Increased glomerular filtration rate as a predictor of diabetic nephropathy--an 8-year prospective study. *Kidney Int* [Internet]. 1992 Apr;41(4):822–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1513104>
63. Gambara V, Mecca G, Remuzzi G, Bertani T. Heterogeneous nature of renal lesions in type II diabetes. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 1993 Feb;3(8):1458–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8490117>
64. Zerbini G, Bonfanti R, Meschi F, Boggetti E, Paesano PL, Gianolli L, et al. Persistent renal hypertrophy and faster decline of glomerular filtration rate precede the development of microalbuminuria in type 1 diabetes. *Diabetes* [Internet]. 2006 Sep;55(9):2620–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16936212>
65. Magee GM, Bilous RW, Cardwell CR, Hunter SJ, Kee F, Fogarty DG. Is hyperfiltration associated with the future risk of developing diabetic nephropathy? A meta-analysis. *Diabetologia* [Internet]. 2009 Apr;52(4):691–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19198800>
66. Orth SR. Smoking and the kidney. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2002 Jun;13(6):1663–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12039997>

67. Briganti EM, Branley P, Chadban SJ, Shaw JE, McNeil JJ, Welborn TA, et al. Smoking is associated with renal impairment and proteinuria in the normal population: the AusDiab kidney study. Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study. *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2002 Oct;40(4):704–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12324904>
68. Hallan SI, Orth SR. Smoking is a risk factor in the progression to kidney failure. *Kidney Int* [Internet]. 2011 Sep;80(5):516–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21677635>
69. Ejerblad E, Fored CM, Lindblad P, Fryzek J, Dickman PW, Elinder C-G, et al. Association between smoking and chronic renal failure in a nationwide population-based case-control study. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2004 Aug;15(8):2178–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15284303>
70. Rossi MCE, Nicolucci A, Pellegrini F, Comaschi M, Ceriello A, Cucinotta D, et al. Obesity and changes in urine albumin/creatinine ratio in patients with type 2 diabetes: The DEMAND Study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* [Internet]. 2010 Feb [cited 2017 Apr 23];20(2):110–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19447588>
71. Thorn LM, Forsblom C, Fagerudd J, Thomas MC, Pettersson-Fernholm K, Saraheimo M, et al. Metabolic syndrome in type 1 diabetes: association with diabetic nephropathy and glycemic control (the FinnDiane study). *Diabetes Care* [Internet]. 2005 Aug;28(8):2019–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16043748>
72. Saraheimo M, Teppo A-M, Forsblom C, Fagerudd J, Groop P-H. Diabetic nephropathy is associated with low-grade inflammation in Type 1 diabetic patients. *Diabetologia* [Internet]. 2003 Oct;46(10):1402–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12928771>
73. Chrzastek K, Piasecki T, Wieliczko A. Impact of CpG oligodeoxynucleotide stimulation on percentage of T and B cells in chicken. Vol. 16, *Pol.J.Vet.Sci.* 2013. p. 551–4.
74. Fernandez-Fernandez B, Ortiz A, Gomez-Guerrero C, Barat A, Martin-Cleary C, Egido J. Juxtaglomerular apparatus hyperplasia under dual angiotensin blockade. A footprint of adequate RAS inhibition or a concern for renal fibrosis? Vol. 13, *BMC.Nephrol.* 2012. p. 21-.

75. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* [Internet]. 2001 Dec 13 [cited 2017 Apr 23];414(6865):813–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11742414>
76. Wanner C, Inzucchi SE, Lachin JM, Fitchett D, von Eynatten M, Mattheus M, et al. Empagliflozin and Progression of Kidney Disease in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* [Internet]. 2016 Jul 28;375(4):323–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27299675>
77. Dessapt C, Baradez MO, Hayward A, Dei Cas A, Thomas SM, Viberti G, et al. Mechanical forces and TGF β 1 reduce podocyte adhesion through α 3 β 1 integrin downregulation. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2009 Sep 1 [cited 2017 Apr 23];24(9):2645–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19420102>
78. Susztak K, Raff AC, Schiffer M, Böttinger EP. Glucose-induced reactive oxygen species cause apoptosis of podocytes and podocyte depletion at the onset of diabetic nephropathy. *Diabetes* [Internet]. 2006 Jan [cited 2017 Apr 23];55(1):225–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16380497>
79. Coward RJM, Welsh GI, Yang J, Tasman C, Lennon R, Koziell A, et al. The human glomerular podocyte is a novel target for insulin action. *Diabetes* [Internet]. 2005 Nov [cited 2017 Apr 23];54(11):3095–102. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16249431>
80. Tejada T, Catanuto P, Ijaz A, Santos JV, Xia X, Sanchez P, et al. Failure to phosphorylate AKT in podocytes from mice with early diabetic nephropathy promotes cell death. *Kidney Int* [Internet]. 2008 Jun [cited 2017 Apr 23];73(12):1385–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18385666>
81. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography’s Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* [Internet]. 2005 Dec;18(12):1440–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16385666>

nlm.nih.gov/pubmed/16376782

82. Eremina V, Sood M, Haigh J, Nagy A, Lajoie G, Ferrara N, et al. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. *J Clin Invest* [Internet]. 2003 Mar 1 [cited 2017 Apr 23];111(5):707–16. Available from: <http://www.jci.org/articles/view/17423>
83. Navarro-González JF, Muros M, Mora-Fernández C, Herrera H, Meneses B, García J. Pentoxifylline for renoprotection in diabetic nephropathy: the PREDIAN study. Rationale and basal results. *J Diabetes Complications* [Internet]. 2011;25(5):314–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21144773>
84. Perez-Gomez MV, Sanchez-Niño MD, Sanz AB, Zheng B, Martín-Cleary C, Ruiz-Ortega M, et al. Targeting inflammation in diabetic kidney disease: early clinical trials. *Expert Opin Investig Drugs* [Internet]. 2016 Sep;25(9):1045–58. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27268955>
85. Tervaert TWC, Mooyaart AL, Amann K, Cohen AH, Cook HT, Drachenberg CB, et al. Pathologic classification of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2010 Apr;21(4):556–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20167701>
86. van der Kloet FM, Tempels FWA, Ismail N, van der Heijden R, Kasper PT, Rojas-Cherto M, et al. Discovery of early-stage biomarkers for diabetic kidney disease using ms-based metabolomics (FinnDiane study). *Metabolomics* [Internet]. 2012 Feb;8(1):109–19. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22279428>
87. Maahs DM, Siwy J, Argiles A, Cerna M, Delles C, Dominiczak AF, et al. Urinary collagen fragments are significantly altered in diabetes: a link to pathophysiology. Vol. 5, *PLoS. One*. 2010. p.
88. Rossing K, Mischak H, Dakna M, Zürlbig P, Novak J, Julian BA, et al. Urinary proteomics in diabetes and CKD. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2008 Jul;19(7):1283–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18448586>

89. Andersen S, Mischak H, Zurbig P, Parving HH, Rossing P. Urinary proteome analysis enables assessment of renoprotective treatment in type 2 diabetic patients with microalbuminuria. Vol. 11, BMC.Nephrol. 2010. p. 29-.
90. Good DM, Zurbig P, Argilés A, Bauer HW, Behrens G, Coon JJ, et al. Naturally occurring human urinary peptides for use in diagnosis of chronic kidney disease. Mol Cell Proteomics [Internet]. 2010 Nov;9(11):2424–37. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20616184>
91. Mischak H, Vlahou A, Ioannidis JPA. Technical aspects and inter-laboratory variability in native peptide profiling: the CE-MS experience. Clin Biochem [Internet]. 2013 Apr;46(6):432–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23041249>
92. Roscioni SS, de Zeeuw D, Hellemons ME, Mischak H, Zurbig P, Bakker SJL, et al. A urinary peptide biomarker set predicts worsening of albuminuria in type 2 diabetes mellitus. Diabetologia [Internet]. 2013 Feb;56(2):259–67. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23086559>
93. Zurbig P, Jerums G, Hovind P, Macisaac RJ, Mischak H, Nielsen SE, et al. Urinary proteomics for early diagnosis in diabetic nephropathy. Diabetes [Internet]. 2012 Dec;61(12):3304–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22872235>
94. Argiles A, Siwy J, Duranton F, Gayraud N, Dakna M, Lundin U, et al. CKD273, a new proteomics classifier assessing CKD and its prognosis. Vol. 8, PLoS.One. 2013. p. e62837-.
95. Zubiri I, Posada-Ayala M, Sanz-Maroto A, Calvo E, Martin-Lorenzo M, Gonzalez-Calero L, et al. Diabetic nephropathy induces changes in the proteome of human urinary exosomes as revealed by label-free comparative analysis. J Proteomics [Internet]. 2014 Jan 16;96:92–102. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24211404>
96. Izquierdo MC, Martin-Cleary C, Fernandez-Fernandez B, Elewa U, Sanchez-Niño MD, Carrero JJ, et al. CXCL16 in kidney and cardiovascular injury. Cytokine Growth Factor Rev [Internet]. 2014 Jun;25(3):317–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24861945>

97. Gutwein P, Abdel-Bakky MS, Doberstein K, Schramme A, Beckmann J, Schaefer L, et al. CXCL16 and oxLDL are induced in the onset of diabetic nephropathy. *J Cell Mol Med* [Internet]. 2009 Sep;13(9B):3809–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19426159>
98. Zhao L, Wu F, Jin L, Lu T, Yang L, Pan X, et al. Serum CXCL16 as a novel marker of renal injury in type 2 diabetes mellitus. Vol. 9, *PLoS.One*. 2014. p. e87786-.
99. Elewa U, Sanchez-Nino MD, Mahillo-Fernandez I, Martin-Cleary C, Belen SA, Perez-Gomez M V, et al. Circulating CXCL16 in Diabetic Kidney Disease. Vol. 41, *Kidney Blood Press Res*. 2016. p. 663–71.
100. Tavori H, Fan D, Blakemore JL, Yancey PG, Ding L, Linton MF, et al. Serum proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 and cell surface low-density lipoprotein receptor: evidence for a reciprocal regulation. *Circulation* [Internet]. 2013 Jun 18;127(24):2403–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23690465>
101. Abifadel M, Varret M, Rabès J-P, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet* [Internet]. 2003 Jun;34(2):154–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12730697>
102. Jin K, Park B-S, Kim Y-W, Vaziri ND. Plasma PCSK9 in nephrotic syndrome and in peritoneal dialysis: a cross-sectional study. *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2014 Apr;63(4):584–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24315769>
103. Robinson JG, Farnier M, Krempf M, Bergeron J, Luc G, Averna M, et al. Efficacy and safety of alirocumab in reducing lipids and cardiovascular events. *N Engl J Med* [Internet]. 2015 Apr 16;372(16):1489–99. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25773378>
104. Sabatine MS, Giugliano RP, Wiviott SD, Raal FJ, Blom DJ, Robinson J, et al. Efficacy and safety of evolocumab in reducing lipids and cardiovascular events. *N Engl J Med* [Internet]. 2015 Apr 16;372(16):1500–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25773607>
105. Elewa U, Fernández-Fernández B, Mahillo-Fernández I, Martin-Cleary C, Sanz AB, Sanchez-Niño MD, et al. PCSK9 in diabetic kidney disease. *Eur J Clin Invest* [Internet]. 2016

Sep;46(9):779–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27438893>

106. Esquela AF, Lee S-J. Regulation of metanephric kidney development by growth/differentiation factor 11. *Dev Biol* [Internet]. 2003 May 15;257(2):356–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12729564>

107. Loffredo FS, Steinhauser ML, Jay SM, Gannon J, Pancoast JR, Yalamanchi P, et al. Growth differentiation factor 11 is a circulating factor that reverses age-related cardiac hypertrophy. *Cell* [Internet]. 2013 May 9;153(4):828–39. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23663781>

108. Katsimpari L, Litterman NK, Schein PA, Miller CM, Loffredo FS, Wojtkiewicz GR, et al. Vascular and neurogenic rejuvenation of the aging mouse brain by young systemic factors. *Science* [Internet]. 2014 May 9;344(6184):630–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24797482>

109. Olson KA, Beatty AL, Heidecker B, Regan MC, Brody EN, Foreman T, et al. Association of growth differentiation factor 11/8, putative anti-ageing factor, with cardiovascular outcomes and overall mortality in humans: analysis of the Heart and Soul and HUNT3 cohorts. *Eur Heart J* [Internet]. 2015 Dec 21;36(48):3426–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26294790>

110. Yamagishi S, Matsui T, Kurokawa Y, Fukami K. Serum Levels of Growth Differentiation Factor 11 Are Independently Associated with Low Hemoglobin Values in Hemodialysis Patients. *Vol. 5, Biores.Open.Access*. 2016. p. 155–8.

111. Fadini GP, Menegazzo L, Bonora BM, Mazzucato M, Persano S, Vigili de Kreutzenberg S, et al. Effects of Age, Diabetes, and Vascular Disease on Growth Differentiation Factor 11: First-in-Human Study. *Diabetes Care* [Internet]. 2015 Aug;38(8):e118-9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26116718>

112. Journal of the Practice of Cardiovascular Sciences : Login [Internet]. [cited 2017 Apr 23]. Available from: <http://www.j-pcs.org/citation.asp?issn=2395-5414;year=2015;volume=1;issue>

=3;spage=262;epage=266;aulast=Adela;aid=JPractCardiovascSci_2015_1_3_262_177246

113. Martínez-Flores JA, Serrano M, Pérez D, Lora D, Paz-Artal E, Morales JM, et al. Detection of circulating immune complexes of human IgA and beta 2 glycoprotein I in patients with antiphospholipid syndrome symptomatology. *J Immunol Methods* [Internet]. 2015 Jul;422:51–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25865263>
114. Lockshin MD, Kim M, Laskin CA, Guerra M, Branch DW, Merrill J, et al. Prediction of adverse pregnancy outcome by the presence of lupus anticoagulant, but not anticardiolipin antibody, in patients with antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2012 Jul;64(7):2311–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22275304>
115. Lakos G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC, et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti- β 2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2012 Jan;64(1):1–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21953634>
116. Serrano M, Martinez-Flores JA, Castro MJ, Garcia F, Lora D, Perez D, et al. Renal transplantation dramatically reduces IgA anti-beta-2-glycoprotein I antibodies in patients with endstage renal disease. Vol. 2014, *J.Immunol.Res.* 2014. p. 641962-.
117. Ranzolin A, Bohn JM, Norman GL, Manenti E, Bodanese LC, von Mühlen CA, et al. Anti-beta2-glycoprotein I antibodies as risk factors for acute myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2004 Aug;83(2):141-4-40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15322656>
118. Borges RBK, Bodanese LC, Mühlen CA von, Repetto G, Viehe M, Norman GL, et al. Anti-beta2-glycoprotein I autoantibodies and metabolic syndrome. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2011 Apr;96(4):272–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21359485>
119. Morales JM, Martinez-Flores JA, Serrano M, Castro MJ, Alfaro FJ, García F, et al. Association of early kidney allograft failure with preformed IgA antibodies to β 2-glycoprotein I. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2015 Mar;26(3):735–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25865263>

nih.gov/pubmed/25071084

120. Tuttle KR, Bakris GL, Bilous RW, Chiang JL, de Boer IH, Goldstein-Fuchs J, et al. Diabetic kidney disease: a report from an ADA Consensus Conference. *Diabetes Care* [Internet]. 2014 Oct;37(10):2864–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25249672>

121. Chamberlain JJ, Rhinehart AS, Shaefer CF, Neuman A. Diagnosis and Management of Diabetes: Synopsis of the 2016 American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes. *Ann Intern Med* [Internet]. 2016 Apr 19;164(8):542–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26928912>

122. Effect of intensive therapy on the development and progression of diabetic nephropathy in the Diabetes Control and Complications Trial. The Diabetes Control and Complications (DCCT) Research Group. *Kidney Int* [Internet]. 1995 Jun;47(6):1703–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7643540>

123. de Boer IH, Rue TC, Cleary PA, Lachin JM, Molitch ME, Steffes MW, et al. Long-term renal outcomes of patients with type 1 diabetes mellitus and microalbuminuria: an analysis of the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications cohort. *Arch Intern Med* [Internet]. 2011 Mar 14;171(5):412–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21403038>

124. Perkovic V, Heerspink HL, Chalmers J, Woodward M, Jun M, Li Q, et al. Intensive glucose control improves kidney outcomes in patients with type 2 diabetes. *Kidney Int* [Internet]. 2013 Mar;83(3):517–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23302714>

125. Graham DJ, Ouellet-Hellstrom R, MaCurdy TE, Ali F, Sholley C, Worrall C, et al. Risk of acute myocardial infarction, stroke, heart failure, and death in elderly Medicare patients treated with rosiglitazone or pioglitazone. *JAMA* [Internet]. 2010 Jul 28;304(4):411–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20584880>

126. Kermode-Scott B. Meta-analysis confirms raised risk of bladder cancer from pioglitazone.

Vol. 345, BMJ. 2012. p. e4541-.

127. Groop P-H, Cooper ME, Perkovic V, Emser A, Woerle H-J, von Eynatten M. Linagliptin lowers albuminuria on top of recommended standard treatment in patients with type 2 diabetes and renal dysfunction. *Diabetes Care* [Internet]. 2013 Nov;36(11):3460–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24026560>
128. Chao EC, Henry RR. SGLT2 inhibition--a novel strategy for diabetes treatment. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 2010 Jul;9(7):551–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20508640>
129. Zinman B, Wanner C, Lachin JM, Fitchett D, Bluhmki E, Hantel S, et al. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* [Internet]. 2015 Nov 26 [cited 2017 Apr 23];373(22):2117–28. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1504720>
130. KDOQI. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Diabetes and Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2007 Feb;49(2 Suppl 2):S12-154. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17276798>
131. ACCORD Study Group, Cushman WC, Evans GW, Byington RP, Goff DC, Grimm RH, et al. Effects of intensive blood-pressure control in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* [Internet]. 2010 Apr 29;362(17):1575–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20228401>
132. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2014. *Diabetes Care* [Internet]. 2014 Jan;37 Suppl 1:S14-80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24357209>
133. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* [Internet]. 2014 Jun 24;129(25 Suppl 2):S1-45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24222016>

134. Lewis EJ, Hunsicker LG, Clarke WR, Berl T, Pohl MA, Lewis JB, et al. Renoprotective effect of the angiotensin-receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type 2 diabetes. *N Engl J Med* [Internet]. 2001 Sep 20;345(12):851–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11565517>
135. Parving HH, Lehnert H, Bröchner-Mortensen J, Gomis R, Andersen S, Arner P, et al. The effect of irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* [Internet]. 2001 Sep 20;345(12):870–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11565519>
136. Nakao N, Yoshimura A, Morita H, Takada M, Kayano T, Ideura T. Combination treatment of angiotensin-II receptor blocker and angiotensin-converting-enzyme inhibitor in non-diabetic renal disease (COOPERATE): a randomised controlled trial. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2003 Jan 11;361(9352):117–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12531578>
137. Kunz R, Friedrich C, Wolbers M, Mann JFE. Meta-analysis: effect of monotherapy and combination therapy with inhibitors of the renin angiotensin system on proteinuria in renal disease. *Ann Intern Med* [Internet]. 2008 Jan 1;148(1):30–48. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17984482>
138. Mann JFE, Schmieder RE, McQueen M, Dyal L, Schumacher H, Pogue J, et al. Renal outcomes with telmisartan, ramipril, or both, in people at high vascular risk (the ONTARGET study): a multicentre, randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2008 Aug 16;372(9638):547–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18707986>
139. ONTARGET Investigators, Yusuf S, Teo KK, Pogue J, Dyal L, Copland I, et al. Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *N Engl J Med* [Internet]. 2008 Apr 10;358(15):1547–59. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18378520>
140. Parving H-H, Brenner BM, McMurray JJ V, de Zeeuw D, Haffner SM, Solomon SD, et

- al. Cardiorenal end points in a trial of aliskiren for type 2 diabetes. *N Engl J Med* [Internet]. 2012 Dec 6;367(23):2204–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23121378>
141. Fried LF, Emanuele N, Zhang JH, Brophy M, Conner TA, Duckworth W, et al. Combined angiotensin inhibition for the treatment of diabetic nephropathy. *N Engl J Med* [Internet]. 2013 Nov 14;369(20):1892–903. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24206457>
142. Makani H, Bangalore S, Desouza KA, Shah A, Messerli FH. Efficacy and safety of dual blockade of the renin-angiotensin system: meta-analysis of randomised trials. Vol. 346, *BMJ*. 2013. p. f360-.
143. Esteras R, Perez-Gomez MV, Rodriguez-Osorio L, Ortiz A, Fernandez-Fernandez B. Combination use of medicines from two classes of renin-angiotensin system blocking agents: risk of hyperkalemia, hypotension, and impaired renal function. *Ther Adv drug Saf* [Internet]. 2015 Aug;6(4):166–76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26301070>
144. Friedman AN, Chambers M, Kamendulis LM, Temmerman J. Short-term changes after a weight reduction intervention in advanced diabetic nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2013 Nov;8(11):1892–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23929927>
145. KDIGO Clinical Practice Guideline for Lipid Management in Chronic Kidney Disease KDIGO Clinical Practice Guideline for Lipid Management in Chronic Kidney Disease KDIGO Clinical Practice Guideline for Lipid Management in Chronic Kidney Disease. 2013 [cited 2017 Apr 23];3(3). Available from: <http://www.kidney-international.org>
146. Tonkin AM, Chen L. Effects of combination lipid therapy in the management of patients with type 2 diabetes mellitus in the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) trial. *Circulation* [Internet]. 2010 Aug 24;122(8):850–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20733114>
147. Baigent C, Landray MJ, Reith C, Emberson J, Wheeler DC, Tomson C, et al. The effects of lowering LDL cholesterol with simvastatin plus ezetimibe in patients with chronic kidney

disease (Study of Heart and Renal Protection): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2011 Jun 25;377(9784):2181–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21663949>

148. Katsiki N, Athyros VG, Karagiannis A, Mikhailidis DP. The role of statins in the treatment of type 2 diabetes mellitus: an update. *Curr Pharm Des* [Internet]. 2014;20(22):3665–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24040875>

149. Pijls LT, de Vries H, Donker AJ, van Eijk JT. The effect of protein restriction on albuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized trial. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 1999 Jun;14(6):1445–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10383006>

150. Gaede P, Vedel P, Larsen N, Jensen GVH, Parving H-H, Pedersen O. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* [Internet]. 2003 Jan 30;348(5):383–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12556541>

151. Gaede P, Lund-Andersen H, Parving H-H, Pedersen O. Effect of a multifactorial intervention on mortality in type 2 diabetes. *N Engl J Med* [Internet]. 2008 Feb 7;358(6):580–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18256393>

152. Fernandez-Fernandez B, Ortiz A, Gomez-Guerrero C, Egido J. Therapeutic approaches to diabetic nephropathy--beyond the RAS. *Nat Rev Nephrol* [Internet]. 2014 Jun;10(6):325–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24802062>

153. Navarro-González JF, Mora-Fernández C, Muros de Fuentes M, García-Pérez J. Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Nat Rev Nephrol* [Internet]. 2011 Jun;7(6):327–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21537349>

154. de Zeeuw D, Agarwal R, Amdahl M, Audhya P, Coyne D, Garimella T, et al. Selective vitamin D receptor activation with paricalcitol for reduction of albuminuria in patients with

type 2 diabetes (VITAL study): a randomised controlled trial. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2010 Nov 6;376(9752):1543–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21055801>

155. Perez-Gomez M V, Ortiz-Ardian A, Lorenzo-Sellares V. Vitamin D and proteinuria: a critical review of molecular bases and clinical experience. Vol. 33, *Nefrologia*. 2013. p. 716–26.

156. Sanchez-Niño M-D, Bozic M, Córdoba-Lanús E, Valcheva P, Gracia O, Ibarz M, et al. Beyond proteinuria: VDR activation reduces renal inflammation in experimental diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* [Internet]. 2012 Mar 15;302(6):F647-57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22169009>

157. Gonzalez-Parra E, Rojas-Rivera J, Tuñón J, Praga M, Ortiz A, Egido J. Vitamin D receptor activation and cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2012 Dec;27 Suppl 4:iv17-21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23258805>

158. Alborzi P, Patel NA, Peterson C, Bills JE, Bekele DM, Bunaye Z, et al. Paricalcitol reduces albuminuria and inflammation in chronic kidney disease: a randomized double-blind pilot trial. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)* [Internet]. 2008 Aug;52(2):249–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18606901>

159. Gonzalez E, Rojas-Rivera J, Polanco N, Morales E, Morales JM, Egido J, et al. Effects of oral paricalcitol on secondary hyperparathyroidism and proteinuria of kidney transplant patients. *Transplantation* [Internet]. 2013 Apr 15;95(7):e49-52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23545517>

160. Ortiz A, Sanchez Niño MD, Rojas J, Egido J. Paricalcitol for reduction of albuminuria in diabetes. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2011 Feb 19;377(9766):635–6, NaN-7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21334525>

161. Kohan DE, Pollock DM. Endothelin antagonists for diabetic and non-diabetic chronic kidney disease. *Br J Clin Pharmacol* [Internet]. 2013 Oct;76(4):573–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23228194>

162. Gómez-Garre D, Largo R, Liu XH, Gutierrez S, López-Armada MJ, Palacios I, et al.

An orally active ETA/ETB receptor antagonist ameliorates proteinuria and glomerular lesions in rats with proliferative nephritis. *Kidney Int* [Internet]. 1996 Sep;50(3):962–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8872972>

163. Rodríguez-Vita J, Ruiz-Ortega M, Rupérez M, Esteban V, Sanchez-López E, Plaza JJ, et al. Endothelin-1, via ETA receptor and independently of transforming growth factor-beta, increases the connective tissue growth factor in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* [Internet]. 2005 Jul 22;97(2):125–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15976312>

164. Mann JFE, Green D, Jamerson K, Ruilope LM, Kuranoff SJ, Littke T, et al. Avosentan for overt diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2010 Mar;21(3):527–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20167702>

165. Kohan DE, Pritchett Y, Molitch M, Wen S, Garimella T, Audhya P, et al. Addition of atrasentan to renin-angiotensin system blockade reduces albuminuria in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2011 Apr;22(4):763–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21372210>

166. de Zeeuw D, Coll B, Andress D, Brennan JJ, Tang H, Houser M, et al. The endothelin antagonist atrasentan lowers residual albuminuria in patients with type 2 diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2014 May 1 [cited 2017 Apr 23];25(5):1083–93. Available from: <http://www.jasn.org/cgi/doi/10.1681/ASN.2013080830>

167. Brem AS, Morris DJ, Gong R. Aldosterone-induced fibrosis in the kidney: questions and controversies. *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2011 Sep;58(3):471–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21705125>

168. Ruilope LM, Agarwal R, Chan JC, Cooper ME, Gansevoort RT, Haller H, et al. Rationale, design, and baseline characteristics of ARTS-DN: a randomized study to assess the safety and efficacy of finerenone in patients with type 2 diabetes mellitus and a clinical diagnosis of diabetic nephropathy. Vol. 40, *Am.J.Nephrol*. 2014. p. 572–81.

169. Rossing K, Schjoedt KJ, Smidt UM, Boomsma F, Parving H-H. Beneficial

- effects of adding spironolactone to recommended antihypertensive treatment in diabetic nephropathy: a randomized, double-masked, cross-over study. *Diabetes Care* [Internet]. 2005 Sep;28(9):2106–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16123474>
170. Bakris GL, Agarwal R, Chan JC, Cooper ME, Gansevoort RT, Haller H, et al. Effect of Finerenone on Albuminuria in Patients With Diabetic Nephropathy: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* [Internet]. 2015 Sep 1;314(9):884–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26325557>
171. Goicoechea M, de Vinuesa SG, Verdalles U, Ruiz-Caro C, Ampuero J, Rincón A, et al. Effect of allopurinol in chronic kidney disease progression and cardiovascular risk. *Clin J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2010 Aug;5(8):1388–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20538833>
172. Maahs DM, Caramori L, Cherney DZI, Galecki AT, Gao C, Jalal D, et al. Uric acid lowering to prevent kidney function loss in diabetes: the preventing early renal function loss (PERL) allopurinol study. *Curr Diab Rep* [Internet]. 2013 Aug;13(4):550–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23649945>
173. Hosoya T, Kimura K, Itoh S, Inaba M, Uchida S, Tomino Y, et al. The effect of febuxostat to prevent a further reduction in renal function of patients with hyperuricemia who have never had gout and are complicated by chronic kidney disease stage 3: study protocol for a multicenter randomized controlled study. Vol. 15, *Trials*. 2014. p. 26-.
174. Afsar B, Ortiz A, Covic A, Gaipov A, Esen T, Goldsmith D, et al. Phosphodiesterase type 5 inhibitors and kidney disease. *Int Urol Nephrol* [Internet]. 2015 Sep;47(9):1521–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26242375>
175. Semmler J, Gebert U, Eisenhut T, Moeller J, Schönharting MM, Alléra A, et al. Xanthine derivatives: comparison between suppression of tumour necrosis factor-alpha production and inhibition of cAMP phosphodiesterase activity. *Immunology* [Internet]. 1993 Apr;78(4):520–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8388363>
176. Shan D, Wu HM, Yuan QY, Li J, Zhou RL, Liu GJ. Pentoxifylline for diabetic kidney

disease. Vol. 2, Cochrane.Database.Syst.Rev. 2012. p. CD006800-.

177. Tang X, Bridson G, Ke J, Wu L, Erol H, Graham P, et al. Quantitative analyses of CTP-499 and five major metabolites by core-structure analysis. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* [Internet]. 2014 Jul 15;963:1–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24927417>

178. Sabounjian L, Graham P, Wu L, Braman V, Cheng C, Liu J, et al. A First-in-Patient, Multicenter, Double-Blind, 2-Arm, Placebo-Controlled, Randomized Safety and Tolerability Study of a Novel Oral Drug Candidate, CTP-499, in Chronic Kidney Disease. *Clin Pharmacol drug Dev* [Internet]. 2016 Jul;5(4):314–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27310332>

179. Pergola PE, Raskin P, Toto RD, Meyer CJ, Huff JW, Grossman EB, et al. Bardoxolone methyl and kidney function in CKD with type 2 diabetes. *N Engl J Med* [Internet]. 2011 Jul 28;365(4):327–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21699484>

180. de Zeeuw D, Akizawa T, Audhya P, Bakris GL, Chin M, Christ-Schmidt H, et al. Bardoxolone methyl in type 2 diabetes and stage 4 chronic kidney disease. *N Engl J Med* [Internet]. 2013 Dec 26;369(26):2492–503. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24206459>

181. Moreno JA, Moreno S, Rubio-Navarro A, Sastre C, Blanco-Colio LM, Gómez-Guerrero C, et al. Targeting chemokines in proteinuria-induced renal disease. *Expert Opin Ther Targets* [Internet]. 2012 Aug;16(8):833–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22793382>

182. Sullivan T, Miao Z, Dairaghi DJ, Krasinski A, Wang Y, Zhao BN, et al. CCR2 antagonist CCX140-B provides renal and glycemic benefits in diabetic transgenic human CCR2 knockin mice. *Am J Physiol Renal Physiol* [Internet]. 2013 Nov 1;305(9):F1288-97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23986513>

183. de Zeeuw D, Bekker P, Henkel E, Hasslacher C, Gouni-Berthold I, Mehling H, et al. The effect of CCR2 inhibitor CCX140-B on residual albuminuria in patients with type 2 diabetes and nephropathy: a randomised trial. *lancet Diabetes Endocrinol* [Internet]. 2015 Sep;3(9):687–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26268910>

184. Seok SJ, Lee ES, Kim GT, Hyun M, Lee J-H, Chen S, et al. Blockade of CCL2/CCR2 signalling ameliorates diabetic nephropathy in db/db mice. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2013 Jul 1 [cited 2017 Apr 23];28(7):1700–10. Available from: <https://academic.oup.com/ndt/article-lookup/doi/10.1093/ndt/gfs555>
185. Oberthür D, Achenbach J, Gabdulkhakov A, Buchner K, Maasch C, Falke S, et al. Crystal structure of a mirror-image L-RNA aptamer (Spiegelmer) in complex with the natural L-protein target CCL2. *Nat Commun* [Internet]. 2015 Apr 22;6:6923. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25901662>
186. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Böhm M, et al. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* [Internet]. 2013 Jul;34(28):2159–219. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23771844>
187. Jaross W, Assmann G, Bergmann S, Schulte H. Comparison of risk factors for coronary heart disease in Dresden and Münster. Results of the DRECAN (Dresden Cardiovascular Risk and Nutrition) study and the PROCAM (Prospective Cardiovascular Münster) Study. *Eur J Epidemiol* [Internet]. 1994 Jun;10(3):307–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7859842>
188. Editorial: Major changes made by Criteria Committee of the New York Heart Association. *Circulation* [Internet]. 1974 Mar;49(3):390. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4813168>
189. Deckers JW. Classification of myocardial infarction and unstable angina: a re-assessment. *Int J Cardiol* [Internet]. 2013 Sep 10;167(6):2387–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23384481>
190. Stevens LA, Coresh J, Feldman HI, Greene T, Lash JP, Nelson RG, et al. Evaluation of the modification of diet in renal disease study equation in a large diverse population. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2007 Oct;18(10):2749–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17855641>
191. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI, et al. A

- new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* [Internet]. 2009 May 5;150(9):604–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19414839>
192. Coon JJ, Zürbig P, Dakna M, Dominiczak AF, Decramer S, Fliser D, et al. CE-MS analysis of the human urinary proteome for biomarker discovery and disease diagnostics. *Proteomics Clin Appl* [Internet]. 2008 Jul 10;2(7–8):964. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20130789>
193. Wittke S, Mischak H, Walden M, Kolch W, Rädler T, Wiedemann K. Discovery of biomarkers in human urine and cerebrospinal fluid by capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry: towards new diagnostic and therapeutic approaches. *Electrophoresis* [Internet]. 2005 Apr;26(7–8):1476–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15765478>
194. Neuheff N, Kaiser T, Wittke S, Krebs R, Pitt A, Burchard A, et al. Mass spectrometry for the detection of differentially expressed proteins: a comparison of surface-enhanced laser desorption/ionization and capillary electrophoresis/mass spectrometry. Vol. 18, *Rapid Commun.Mass Spectrom*. 2004. p. 149–56.
195. National Kidney Foundation. KDOQI Clinical Practice Guideline for Diabetes and CKD: 2012 Update. *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2012 Nov;60(5):850–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23067652>
196. Lazarus B, Chen Y, Wilson FP, Sang Y, Chang AR, Coresh J, et al. Proton Pump Inhibitor Use and the Risk of Chronic Kidney Disease. *JAMA Intern Med* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2017 Apr 23];176(2):238–46. Available from: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamainternmed.2015.7193>
197. Siwy J, Schanstra JP, Argiles A, Bakker SJL, Beige J, Boucek P, et al. Multicentre prospective validation of a urinary peptidome-based classifier for the diagnosis of type 2 diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2014 Aug;29(8):1563–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24589724>
198. Zoppini G, Targher G, Chonchol M, Ortalda V, Negri C, Stoico V, et al. Predictors of estimated GFR decline in patients with type 2 diabetes and preserved kidney function. *Clin J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2012 Mar;7(3):401–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22389724>

gov/pubmed/22282481

199. Neugarten J, Acharya A, Silbiger SR. Effect of gender on the progression of nondiabetic renal disease: a meta-analysis. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2000 Feb;11(2):319–29. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10665939>
200. Anantharaman P, Schmidt RJ. Sexual function in chronic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis* [Internet]. 2007 Apr;14(2):119–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17395114>
201. Overview of diabetic nephropathy [Internet]. 2017 [cited 2017 Apr 24]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-diabetic-nephropathy>
202. Shen Y, Cai R, Sun J, Dong X, Huang R, Tian S, et al. Diabetes mellitus as a risk factor for incident chronic kidney disease and end-stage renal disease in women compared with men: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine* [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2017 Apr 24];55(1):66–76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27477292>
203. Tsai W-C, Wu H-Y, Peng Y-S, Ko M-J, Wu M-S, Hung K-Y, et al. Risk Factors for Development and Progression of Chronic Kidney Disease: A Systematic Review and Exploratory Meta-Analysis. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2016 Mar;95(11):e3013. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26986114>
204. GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2015 Jan 10;385(9963):117–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25530442>
205. Takagi M, Babazono T, Uchigata Y. Differences in risk factors for the onset of albuminuria and decrease in glomerular filtration rate in people with Type 2 diabetes mellitus: implications for the pathogenesis of diabetic kidney disease. *Diabet Med* [Internet]. 2015 Oct;32(10):1354–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25968955>
206. Sibley SD, Thomas W, de Boer I, Brunzell JD, Steffes MW. Gender and elevated albumin excretion in the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) cohort: role of central obesity. *Am J Kidney*

- Dis [Internet]. 2006 Feb;47(2):223–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16431251>
207. Orchard TJ, Dorman JS, Maser RE, Becker DJ, Drash AL, Ellis D, et al. Prevalence of complications in IDDM by sex and duration. Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study II. Diabetes [Internet]. 1990 Sep;39(9):1116–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2384191>
208. Goderis G, Van Pottelbergh G, Truyers C, Van Casteren V, De Clercq E, Van Den Broeke C, et al. Long-term evolution of renal function in patients with type 2 diabetes mellitus: a registry-based retrospective cohort study. BMJ Open [Internet]. 2013 Dec 30;3(12):e004029. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24381258>
209. Savage S, Nagel NJ, Estacio RO, Lukken N, Schrier RW. Clinical factors associated with urinary albumin excretion in type II diabetes. Am J Kidney Dis [Internet]. 1995 Jun;25(6):836–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7771479>
210. Pugliese G, Solini A, Bonora E, Fondelli C, Orsi E, Nicolucci A, et al. Chronic kidney disease in type 2 diabetes: lessons from the Renal Insufficiency And Cardiovascular Events (RIACE) Italian Multicentre Study. Nutr Metab Cardiovasc Dis [Internet]. 2014 Aug;24(8):815–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24780515>
211. Moreno JM, Pérez-Abud R, Wangenstein R, Rodríguez Gómez I, López Merino I, Osuna A, et al. Function and expression of renal epithelial sodium transporters in rats with thyroid dysfunction. J Endocrinol Invest [Internet]. 2012 Sep;35(8):735–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22082806>
212. Rhee CM, Alexander EK, Bhan I, Brunelli SM. Hypothyroidism and mortality among dialysis patients. Clin J Am Soc Nephrol [Internet]. 2013 Apr;8(4):593–601. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23258793>
213. Stott DJ, Rodondi N, Kearney PM, Ford I, Westendorp RGJ, Mooijaart SP, et al. Thyroid Hormone Therapy for Older Adults with Subclinical Hypothyroidism. N Engl J Med [Internet]. 2017 Apr 3; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28402245>
214. Xu X, Qin X, Li Y, Sun D, Wang J, Liang M, et al. Efficacy of Folic Acid Therapy on the Progression of Chronic Kidney Disease: The Renal Substudy of the China Stroke Primary

Prevention Trial. JAMA Intern Med [Internet]. 2016 Oct 1;176(10):1443–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27548766>

215. Corsonello A, Ientile R, Buemi M, Cucinotta D, Mauro VN, Macaione S, et al. Serum ionized magnesium levels in type 2 diabetic patients with microalbuminuria or clinical proteinuria. Am J Nephrol [Internet]. 2000;20(3):187–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10878399>

216. Sakaguchi Y, Shoji T, Hayashi T, Suzuki A, Shimizu M, Mitsumoto K, et al. Hypomagnesemia in type 2 diabetic nephropathy: a novel predictor of end-stage renal disease. Diabetes Care [Internet]. 2012 Jul;35(7):1591–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22498805>

217. de Zeeuw D. The end of dual therapy with renin-angiotensin-aldosterone system blockade? N Engl J Med [Internet]. 2013 Nov 14;369(20):1960–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24206456>

218. Viana LV, Gomes MB, Zajdenverg L, Pavin EJ, Azevedo MJ, Brazilian Type 1 Diabetes Study Group. Interventions to improve patients' compliance with therapies aimed at lowering glycosylated hemoglobin (HbA1c) in type 1 diabetes: systematic review and meta-analyses of randomized controlled clinical trials of psychological, telecare, and educational interve. Trials [Internet]. 2016 Feb 17;17:94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26888087>

219. Ahia CL, Holt EW, Krousel-Wood M. Diabetes care and its association with glycosylated hemoglobin level. Am J Med Sci [Internet]. 2014 Mar;347(3):245–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24326617>

220. Chang P-Y, Chien L-N, Lin Y-F, Chiou H-Y, Chiu W-T. Nonadherence of Oral Antihyperglycemic Medication Will Increase Risk of End-Stage Renal Disease. Medicine (Baltimore) [Internet]. 2015 Nov;94(47):e2051. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26632708>

221. Zoccali C, Ruggenenti P, Perna A, Leonardis D, Tripepi R, Tripepi G, et al. Phosphate may promote CKD progression and attenuate renoprotective effect of ACE inhibition. J Am Soc Nephrol [Internet]. 2011 Oct;22(10):1923–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22011111>

gov/pubmed/21852581

222. Moreno JA, Izquierdo MC, Sanchez-Niño MD, Suárez-Alvarez B, Lopez-Larrea C, Jakubowski A, et al. The inflammatory cytokines TWEAK and TNF α reduce renal klotho expression through NF κ B. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2011 Jul;22(7):1315–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21719790>
223. Romain M, Sviri S, Linton DM, Stav I, van Heerden P V. The role of Vitamin B12 in the critically ill--a review. *Anaesth Intensive Care* [Internet]. 2016 Jul;44(4):447–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27456173>
224. Study Of Diabetic Nephropathy With Atrasentan - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. 2017 [cited 2017 Apr 24]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01858532>
225. Farrington K, Covic A, Aucella F, Clyne N, de Vos L, Findlay A, et al. Clinical Practice Guideline on management of older patients with chronic kidney disease stage 3b or higher (eGFR <45 mL/min/1.73 m²). *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2016 Nov;31(suppl 2):ii1-ii66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27807144>
226. Tancredi M, Rosengren A, Svensson A-M, Kosiborod M, Pivodic A, Gudbjörnsdottir S, et al. Excess Mortality among Persons with Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* [Internet]. 2015 Oct 29;373(18):1720–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26510021>
227. Harjutsalo V, Maric-Bilkan C, Forsblom C, Groop PH. Impact of sex and age at onset of diabetes on mortality from ischemic heart disease in patients with type 1 diabetes. Vol. 37, *Diabetes Care*. 2014. p. 144–8.
228. Recarti C, Sep SJS, Stehouwer CDA, Unger T. Excess cardiovascular risk in diabetic women: a case for intensive treatment. *Curr Hypertens Rep* [Internet]. 2015 Jun;17(6):554. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25903071>
229. Sanchez-Niño MD, Sanz AB, Ramos AM, Fernandez-Fernandez B, Ortiz A. Clinical proteomics in kidney disease as an exponential technology: heading towards the disruptive phase. *Clin Kidney J* [Internet]. 2017 Apr;10(2):188–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28396735>
230. Van JAD, Scholey JW, Konvalinka A. Insights into Diabetic Kidney Disease Using

Urinary Proteomics and Bioinformatics. J Am Soc Nephrol [Internet]. 2017 Apr;28(4):1050–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28159781>

231. Mischak H, Delles C, Vlahou A, Vanholder R. Proteomic biomarkers in kidney disease: issues in development and implementation. Nat Rev Nephrol [Internet]. 2015 Apr;11(4):221–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25643662>

Trabajos publicados

Trabajos publicados

- **Fernandez-Fernandez B**, Ortiz A, Gomez-Guerrero C, Egido J. Therapeutic approaches to diabetic nephropathy--beyond the RAS. *Nat Rev Nephrol*. 2014 Jun;10(6):325-46. doi: 10.1038/nrneph.2014.74. Epub 2014 May 6. Review. PubMed PMID: 24802062.
- **Fernández-Fernández B**, Ortiz A, Gomez-Guerrero C, Barat A, Martín-Cleary C, Egido J. Juxtaglomerular apparatus hyperplasia under dual angiotensin blockade. A footprint of adequate RAS inhibition or a concern for renal fibrosis? *BMC Nephrol*. 2012 Apr 25;13:21. PubMed PMID: 22533828; PubMed Central PMCID: PMC3447650.
- **Fernández-Fernández B**, Elewa U, Sánchez-Niño MD, Rojas-Rivera JE, Martin-Cleary C, Egido J, Ortiz A. 2012 update on diabetic kidney disease: the expanding spectrum, novel pathogenic insights and recent clinical trials. *Minerva Med*. 2012 Aug;103(4):219-34. Review. PubMed PMID: 22805616.
- Perez-Gomez MV, Sanchez-Niño MD, Sanz AB, Zheng B, Martín-Cleary C, Ruiz-Ortega M, Ortiz A, **Fernández-Fernández B**. Targeting inflammation in diabetic kidney disease: early clinical trials. *Expert Opin Investig Drugs*. 2016 Sep;25(9):1045-58. doi: 10.1080/13543784.2016.1196184. Epub 2016 Jun 13. Review. PubMed PMID: 27268955.
- Perez-Gomez MV, Sanchez-Niño MD, Sanz AB, Martín-Cleary C, Ruiz-Ortega M, Egido J, Navarro-González JF, Ortiz A, **Fernández-Fernández B**. Horizon 2020 in Diabetic Kidney Disease: The Clinical Trial Pipeline for Add-On Therapies on Top of Renin Angiotensin System Blockade. *J Clin Med*. 2015 Jun 18;4(6):1325-47. doi: 10.3390/jcm4061325. Review. PubMed PMID: 26239562; PubMed Central PMCID: PMC4485003.
- Esteras R, Perez-Gomez MV, Rodriguez-Osorio L, Ortiz A, **Fernández-Fernández B**. Combination use of medicines from two classes of renin-angiotensin system blocking agents: risk of hyperkalemia, hypotension, and impaired renal function. *Ther Adv Drug Saf*. 2015 Aug;6(4):166-76. doi: 10.1177/2042098615589905. Review. PubMed PMID:

26301070; PubMed Central PMCID: PMC4530349.

- Castillo-Rodríguez E, Pizarro-Sánchez S, Sanz AB, Ramos AM, Sanchez-Niño MD, Martin-Cleary C, **Fernández-Fernández B**, Ortiz A. Inflammatory Cytokines as Uremic Toxins: “Ni Son Todos Los Que Estan, Ni Estan Todos Los Que Son”. *Toxins* (Basel). 2017 Mar 23;9(4). pii: E114. doi: 10.3390/toxins9040114. Review. PubMed PMID: 28333114.
- Elewa U, Sanchez-Niño MD, Mahillo-Fernández I, Martin-Cleary C, Belen Sanz A, Perez-Gomez MV, **Fernández-Fernández B**, Ortiz A. Circulating CXCL16 in Diabetic Kidney Disease. *Kidney Blood Press Res*. 2016;41(5):663-671. Epub 2016 Sep 26. PubMed PMID: 27665581.
- Tuñón J, **Fernández-Fernández B**, Carda R, Pello AM, Cristóbal C, Tarín N, Aceña Á, González-Casaus ML, Huelmos A, Alonso J, Lorenzo Ó, González-Parra E, Hernández-González I, Mahillo-Fernández I, López-Bescós L, Egido J. Circulating fibroblast growth factor-23 plasma levels predict adverse cardiovascular outcomes in patients with diabetes mellitus with coronary artery disease. *Diabetes Metab Res Rev*. 2016 Oct;32(7):685-693. doi: 10.1002/dmrr.2787. Epub 2016 Apr 25. PubMed PMID: 26888181.
- Elewa U, **Fernández-Fernández B**, Alegre R, Sanchez-Niño MD, Mahillo Fernández I, Perez-Gomez MV, El-Fishawy H, Belal D, Ortiz A. Modifiable risk factors for increased arterial stiffness in outpatient nephrology. *PLoS One*. 2015 Apr 16;10(4):e0123903. doi: 10.1371/journal.pone.0123903. eCollection 2015. PubMed PMID: 25880081; PubMed Central PMCID: PMC4400164.
- Elewa U, **Fernández-Fernández B**, Mahillo-Fernández I, Martin-Cleary C, Sanz AB, Sanchez-Niño MD, Ortiz A. PCSK9 in diabetic kidney disease. *Eur J Clin Invest*. 2016 Sep;46(9):779-86. doi: 10.1111/eci.12661. Epub 2016 Aug 9. PubMed PMID: 27438893.
- Poveda J, Sanz AB, **Fernández-Fernández B**, Carrasco S, Ruiz-Ortega M, Cannata-Ortiz P, Ortiz A, Sanchez-Niño MD. MXRA5 is a TGF- β 1-regulated human protein with anti-inflammatory and anti-fibrotic properties. *J Cell Mol Med*. 2017 Jan;21(1):154-

164. doi: 10.1111/jcmm.12953. Epub 2016 Sep 6. PubMed PMID: 27599751; PubMed Central PMCID: PMC5192817.

- Izquierdo MC, Martin-Cleary C, **Fernández-Fernández B**, Elewa U, Sanchez Niño MD, Carrero JJ, Ortiz A. CXCL16 in kidney and cardiovascular injury. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2014 Jun;25(3):317-25. doi: 10.1016/j.cytogfr.2014.04.002. Epub 2014 May 2. Review. PubMed PMID: 24861945.
- Ramos AM, González-Guerrero C, Sanz A, Sanchez-Niño MD, Rodríguez-Orsorio L, Martín-Cleary C, **Fernández-Fernández B**, Ruiz-Ortega M, Ortiz A. Designing drugs that combat kidney damage. *Expert Opin Drug Discov.* 2015 May;10(5):541-56. doi: 10.1517/17460441.2015.1033394. Epub 2015 Apr 3. Review. PubMed PMID: 25840605.
- Zubiri I, Posada-Ayala M, Benito-Martin A, Maroto AS, Martin-Lorenzo M, Cannata-Ortiz P, de la Cuesta F, Gonzalez-Calero L, Barderas MG, **Fernández-Fernández B**, Ortiz A, Vivanco F, Alvarez-Llamas G. Kidney tissue proteomics reveals regucalcin downregulation in response to diabetic nephropathy with reflection in urinary exosomes. *Transl Res.* 2015 Nov;166(5):474-484.e4. doi: 10.1016/j.trsl.2015.05.007. Epub 2015 May 23. PubMed PMID: 26072307.
- Siwy J, Schanstra JP, Argiles A, Bakker SJ, Beige J, Boucek P, Brand K, Delles C, Durantón F, **Fernández-Fernández B**, Jankowski ML, Al Khatib M, Kunt T, Lajer M, Lichtinghagen R, Lindhardt M, Maahs DM, Mischak H, Mullen W, Navis G, Noutsou M, Ortiz A, Persson F, Petrie JR, Roob JM, Rossing P, Ruggenenti P, Rychlik I, Serra AL, Snell-Bergeon J, Spasovski G, Stojceva-Taneva O, Trillini M, von der Leyen H, Winklhofer-Roob BM, Zürbig P, Jankowski J. Multicentre prospective validation of a urinary peptidome-based classifier for the diagnosis of type 2 diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 2014 Aug;29(8):1563-70. doi: 10.1093/ndt/gfu039. Epub 2014 Mar 2. PubMed PMID: 24589724; PubMed Central PMCID: PMC4118140.
- González N, Prieto I, Del Puerto-Nevado L, Portal-Núñez S, Ardura JA, Corton M, **Fernández-Fernández B**, Aguilera O, Gomez-Guerrero C, Mas S, Moreno JA, Ruiz-

- Ortega M, Sanz AB, Sanchez-Niño MD, Rojo F, Vivanco F, Esbrit P, Ayuso C, Alvarez-Llamas G, Egido J, García-Foncillas J, Ortiz A; DiabetesCancerConnect Consortium.. 2017 update on the relationship between diabetes and colorectal cancer: epidemiology, potential molecular mechanisms and therapeutic implications. *Oncotarget*. 2017 Mar 14;8(11):18456-18485. doi: 10.18632/oncotarget.14472. Review. PubMed PMID: 28060743; PubMed Central PMCID: PMC5392343.
- Zubiri I, Posada-Ayala M, Sanz-Maroto A, Calvo E, Martin-Lorenzo M, Gonzalez-Calero L, de la Cuesta F, Lopez JA, **Fernández-Fernández B**, Ortiz A, Vivanco F, Alvarez-Llamas G. Diabetic nephropathy induces changes in the proteome of human urinary exosomes as revealed by label-free comparative analysis. *J Proteomics*. 2014 Jan 16;96:92-102. doi: 10.1016/j.jprot.2013.10.037. Epub 2013 Nov 7. PubMed PMID: 24211404.
 - Posada-Ayala M, Zubiri I, Martin-Lorenzo M, Sanz-Maroto A, Molero D, Gonzalez-Calero L, **Fernández-Fernández B**, de la Cuesta F, Laborde CM, Barderas MG, Ortiz A, Vivanco F, Alvarez-Llamas G. Identification of a urine metabolomic signature in patients with advanced-stage chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2014 Jan;85(1):103-11. doi: 10.1038/ki.2013.328. Epub 2013 Sep 18. PubMed PMID: 24048377.
 - Poveda J, Tabara LC, **Fernández-Fernández B**, Martin-Cleary C, Sanz AB, Selgas R, Ortiz A, Sanchez-Niño MD. TWEAK/Fn14 and Non-Canonical NF-kappaB Signaling in Kidney Disease. *Front Immunol*. 2013 Dec 10;4:447. doi: 10.3389/fimmu.2013.00447. Review. PubMed PMID: 24339827; PubMed Central PMCID: PMC3857575.
 - Sanchez-Niño MD, Poveda J, Sanz AB, Mezzano S, Carrasco S, **Fernández-Fernández B**, Burkly LC, Nair V, Kretzler M, Hodgins JB, Ruiz-Ortega M, Selgas R, Egido J, Ortiz A. Fn14 in podocytes and proteinuric kidney disease. *Biochim Biophys Acta*. 2013 Dec;1832(12):2232-43. doi: 10.1016/j.bbadis.2013.08.010. Epub 2013 Aug 30. PubMed PMID: 23999007.
 - Elewa U, Sanchez-Niño MD, Martin-Cleary C, **Fernández-Fernández B**, Egido J, Ortiz A. Cardiovascular risk biomarkers in CKD: the inflammation link and the road less

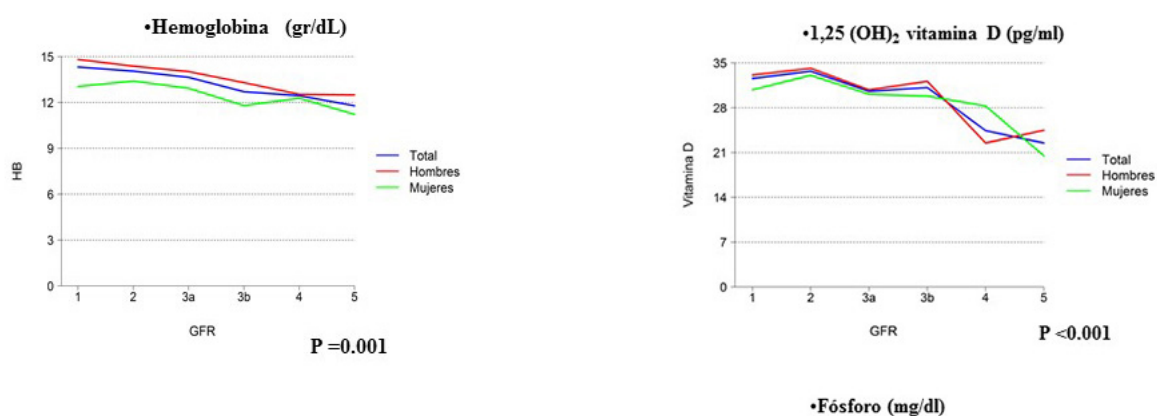
traveled. *Int Urol Nephrol*. 2012 Dec;44(6):1731-44. doi: 10.1007/s11255-012-0271-4. Epub 2012 Sep 11. Review. PubMed PMID: 22965378.

- Alvarez-Llamas G, Zubiri I, Maroto AS, de la Cuesta F, Posada-Ayala M, Martin-Lorenzo M, Barderas MG, **Fernández-Fernández B**, Ramos A, Ortiz A, Vivanco F. A role for the membrane proteome in human chronic kidney disease erythrocytes. *Transl Res*. 2012 Nov;160(5):374-83. doi: 10.1016/j.trsl.2012.06.004. Epub 2012 Jul 17. PubMed PMID: 22814359.
- Sanchez-Niño MD, Sanz AB, Ramos AM, **Fernández-Fernández B**, Ortiz A. Clinical proteomics in kidney disease as an exponential technology: heading towards the disruptive phase. *Clin Kidney J*. 2017 Apr;10(2):188-191. doi: 10.1093/ckj/sfx023. Epub 2017 Mar 31. PubMed PMID: 28396735; PubMed Central PMCID: PMC5381206.

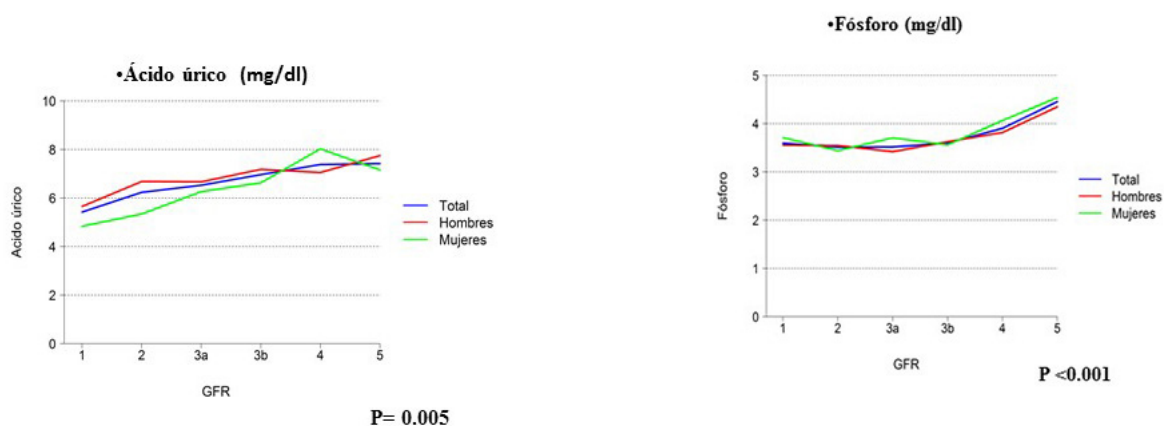
Anexo

Anexo

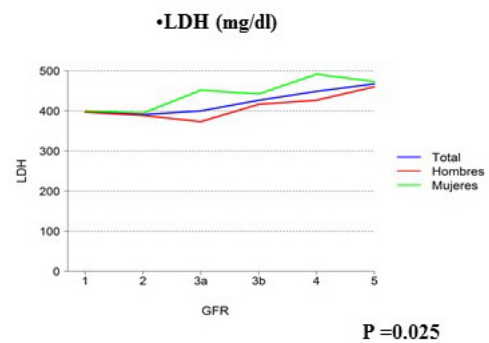
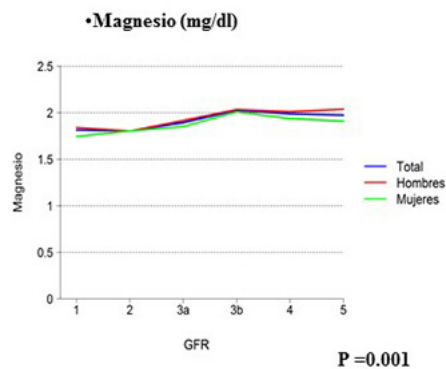
Parámetros analíticos que cambiaron dependiendo de la función renal, la mayor parte de ellos, esperados (Figuras del anexo 1-14)



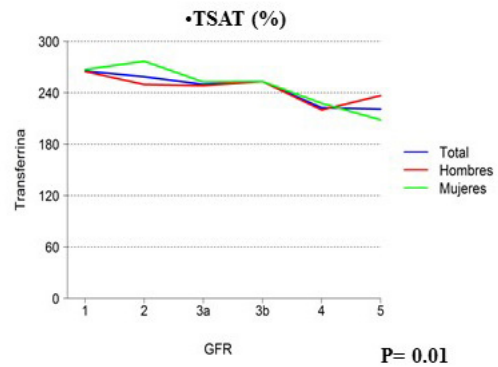
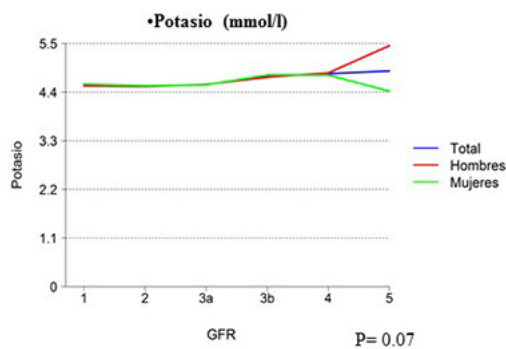
Figuras 1 y 2. Cambios en hemoglobina y en 1,25 (OH)vitamina D según FGe (ml/min/1,73m²)



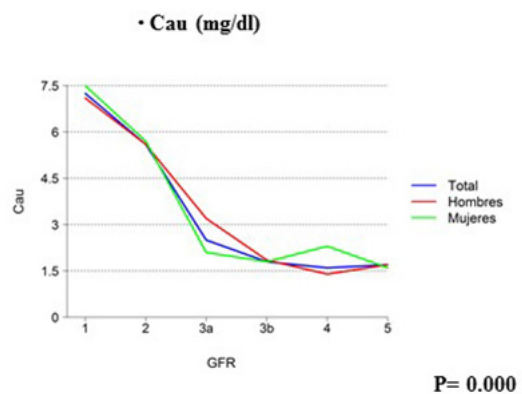
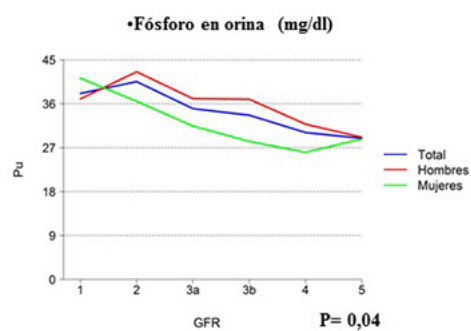
Figuras 3 y 4: Cambios en ácido úrico y fósforo según FGe (ml/min/1,73m²)



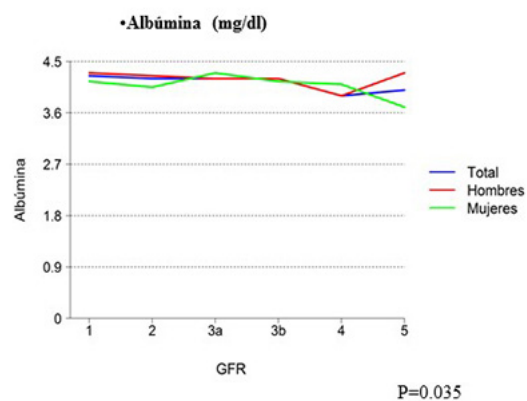
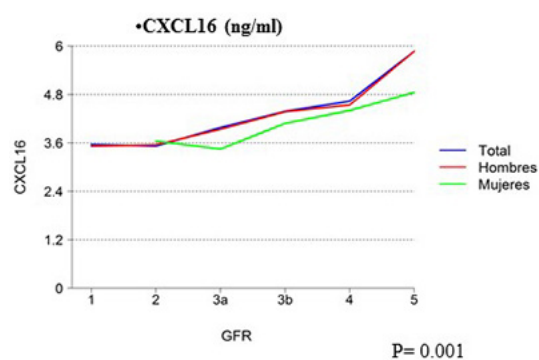
Figuras 5 y 6: Cambios en Magnesio y LDH según FGe (ml/min/1,73m²)



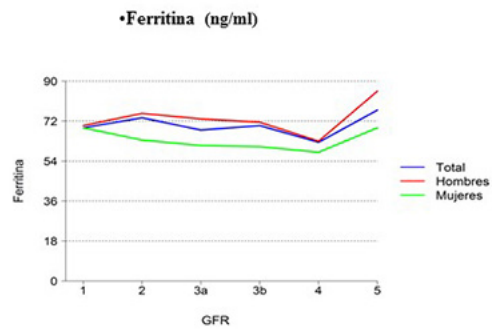
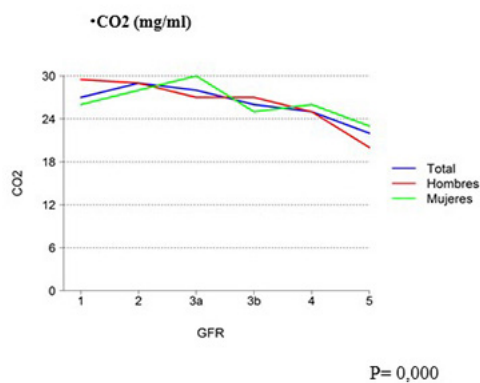
Figuras 7 y 8: Cambios en Potasio y LDH según FGe (ml/min/1,73m²)



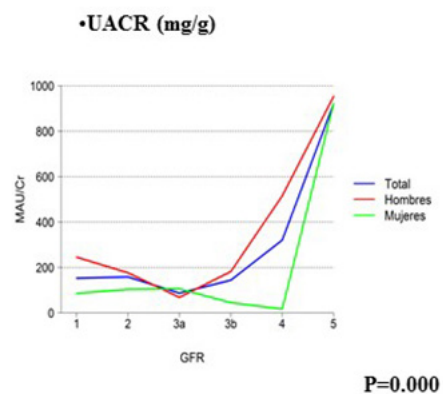
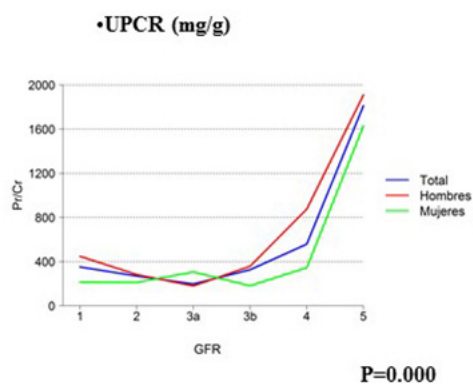
Figuras 9 y 10: Cambios en Fosforo en orina y calcio en orina según FGe (ml/min/1,73m²)



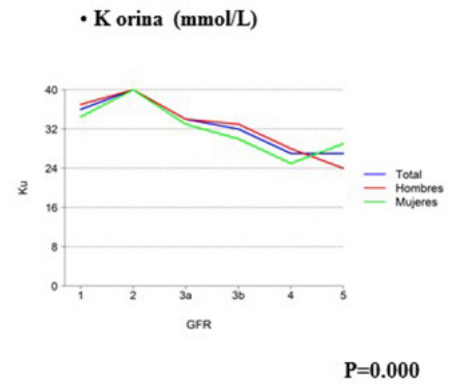
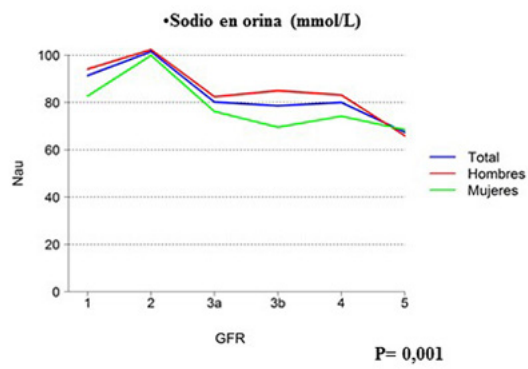
Figuras 11 y 12: Cambios en biomarcador urinario CXCL16 y albúmina según FGe (ml/min/1,73m²)



Figuras 13 y 14: Cambios en CO2 total y ferritina según FGe (ml/min/1,73m²)



Figuras 15 y 16: Cambios en UPCR y UACR según FGe (ml/min/1,73m²)



Figuras 17 y 18: Cambios en Sodio en orina y Potasio en orina según FGe (ml/min/1,73m²)